Untersuchungen über die Starklichtbewegung des Mougeotia Chloroplasten

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der Eberhard-Karl-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

EKKEHARD SCHÖNBOHM

aus Aalen

1963

7604

Tag der mündlichen Prüfung: 15. November 1962

Dekan: Prof. Dr. K. G. GRELL

1. Berichterstatter: Prof. Dr. W. HAUPT

2. Berichterstatter: Prof. Dr. E. BÜNNING

R.UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Untersuchungen über die Starklichtbewegung des Mougeotia-Chloroplasten*)

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen)

Von

Ekkehard Schönbohm

Mit 22 Abbildungen

Eingegangen am 6. Mai 1963

A. Einleitung

Die Starklichtbewegung bei *Mougeotia* („negative Phototaxis") führt zur Profilstellung des plattenförmigen Chloroplasten. Die ersten Angaben zu diesem Bewegungstyp finden sich bei Stahl (1880) und Moore (1888); es folgen die Arbeiten von Lewis (1898) und Senn (1908), die zum Teil mit denen der beiden erstgenannten Autoren nicht übereinstimmen. In jüngster Zeit arbeiteten Mosebach (1958) und Haupt (1959a ff.) erneut an den Problemen der Chloroplasten-Bewegung bei *Mougeotia*. Auf Grund ihrer Methoden gelangten sie zu exakteren Aussagen. Haupt hat sich, vorwiegend in quantitativen Versuchen, der weitgehenden Klärung der Schwachlichtbewegung gewidmet. Mosebach, der die Starklichtbewegung untersuchte, hat sich eingehend mit den Faktoren beschäftigt, die die wechselnde „Stimmung" des Materials bedingen; die Klärung der Grundfragen der Starklichtbewegung behielt er sich für spätere Untersuchungen vor. So sind wir trotz dieser gründlichen Arbeiten über die „negative Phototaxis" bei *Mougeotia* bis jetzt nur wenig unterrichtet. Ich halte es daher für sinnvoll, einige Probleme dieses Bewegungstypus in Angriff zu nehmen und werde versuchen, sie weitgehend quantitativ zu bearbeiten.

Es wird mit demselben *Mougeotia*-Stamm gearbeitet, mit dem Haupt seit Jahren seine Versuche zur Schwachlicht-Bewegung anstellt; wir hoffen, daß dadurch eine Gegenüberstellung und ein Vergleich der Ergebnisse beider Be-

*) Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Tübingen

wegungen möglich sein wird. Die spektrale Wirksamkeit, von der wir bisher nur wissen, daß sie den Blau-Bereich betrifft (SENN, MOSEBACH), gilt es näher zu fassen. Diese Versuche sollen uns dazu führen, Rückschlüsse auf den für die Starklicht-Bewegung verantwortlichen Photoreceptor zu ziehen. Weiter stellen wir die Frage, ob und wie weit bei der negativen Phototaxis (bei *Mougeotia*) ein Primärprozeß experimentell von den Folgereaktionen abgetrennt werden kann (vgl. HAUPT 1959a, MUGELE 1962: Schwachlicht-Bewegung), oder ob der Primärprozeß von schnell ablaufenden Folgeprozessen derart überlagert wird, daß er für uns nicht auffindbar ist. Da die Stark- und Schwachlichtbewegung nicht nur zwei einander entgegengesetzte Reaktionen auf einen quantitativ verschiedenen Lichtreiz hin darstellen, sondern durch qualitativ verschiedene Lichtreize ausgelöst werden (Blaulicht- bzw. Rotlicht-Bewegung, vgl. MUGELE), wäre zu untersuchen, ob sich unter gewissen Belichtungsbedingungen die Tendenz der Schwachlicht-Bewegung mit derjenigen der Starklicht-Reaktion überlagert.

Immer mehr ist zu erkennen, daß für die verschiedensten physiologischen Prozesse die Schwingungsrichtung des linear-polarisierten Lichtes von ausschlaggebender Bedeutung ist (JAFFE 1958, JAFFE u. ETZOLD 1962, HAUPT 1960). Wir werden daher auch bei *Mougeotia* zu prüfen haben, ob und wie die Starklichtreaktion in polarisiertem Licht abläuft, wie das Wirkungsverhältnis von quer- zu längspolarisierter Starklicht-Strahlung ausfällt und in welcher quantitativen Beziehung das unpolarisierte Licht dazu steht.

B. Material und Methode

Anzucht des Materials und Anfertigen der Präparate

In meinen Versuchen verwendete ich denselben Stamm von *Mougeotia* spec., mit dem HAUPT und Mitarbeiter seit Jahren in Tübingen arbeiten; auch die allgemeinen Methoden waren die gleichen (HAUPT 1959 a); jedoch erwies es sich als zweckmäßig, für die Kultur der Algen das Leuchtstoffröhrenlicht (Osram HNT + HNW) durch Glühlampen zu ergänzen. Als Nährmedium erwies sich eine Lauberdeabkochung mit Zusätzen nach folgendem Rezept als bisher optimal [1]):

> 200 g trockene Lauberde werden mit 750 ml aqua bidest. innerhalb von 48 Stunden 3mal autoklaviert. Nach dem Filtrieren werden 50 ml des Filtrates entnommen und mit aqua bidest. auf 1000 ml aufgefüllt. 50 mg Na_2HPO_4 und 50 mg $NaNO_3$ werden pro Liter Nährlösung zugesetzt.

Wegen der längeren Belichtungszeiten in den Starklichtversuchen konnten die Präparate im Gegensatz zu den Schwachlichtversuchen nicht alle unmittelbar hintereinander angesetzt

[1]) Rezept von Dr. D. MÜLLER ausgearbeitet.

werden. Um etwaige Störungen auszuschalten, die durch Licht- oder Temperaturveränderungen während des Ansetzens auftreten könnten, wurden sämtliche Präparate im Konstantraum bei 20° angesetzt. Auch bei diesen Versuchen lagen die Präparate wie bei den Schwachlichtversuchen in Petri-Schalen mit feuchtem Filtrierpapier. Da die Schalen nur während kurzfristiger Beobachtungen und Belichtungen geöffnet wurden, konnte eine Schädigung des Materials infolge Wasserverlusts vermieden werden. Bei länger dauernden Belichtungen, bei denen die Petri-Schalen geschlossen bleiben mußten, wurde die Lichtabsorption des Deckels berücksichtigt.

Jedes Präparat diente nur einem Belichtungsprozeß. Nach der mikroskopischen Auswertung wurde das belichtete Material verworfen. Da die „Stimmung" des Materials von Schale zu Schale teilweise erheblichen Schwankungen unterliegt, wurden geschlossene Versuchsserien nur mit Material aus einer einzigen Anzuchtschale ausgeführt.

Ablauf eines Versuches

Die Algen standen im Konstantraum bei einem regelmäßigen Licht-Dunkelwechsel von 14 : 10 Stunden; die Lichtphase begann 7 Uhr morgens. Es hat sich als ratsam erwiesen, die Versuche ungefähr zwischen 10 Uhr und 18 Uhr auszuführen. Nur während dieser Zeit reagierte das Material weitgehend einheitlich. Wenn wir die Lichtbedingungen untersuchen wollen, die zur Starklichtlage, d. h. zur Profilstellung des *Mougeotia*-Chloroplasten führen, ist es erforderlich, daß sämtliche Chloroplasten zu Beginn der Versuchsbelichtung Flächenstellung (Schwachlichtlage) eingenommen haben. Dies erreicht man dadurch, daß diffuses Weißlicht (2000 Lux) einseitig von oben auf das Präparat eingestrahlt wird. Seitlich einfallende Strahlen können durch einen schwarzen Papierzylinder von dem Präparat ferngehalten werden. An diese Vorbereitungsphase („Richten") schloß sich zur Sensibilisierung eine Dunkelpause an (Dunkel, vgl. S. 239), der nach einer kurzen mikroskopischen Prüfung des gerichteten Materials die Versuchsbelichtung folgte, die zur Starklichtbewegung führen sollte. Die Auswertung geschah nach der Methode von Haupt, wobei der Prozentsatz von auf Kante stehenden Chloroplasten als Reaktionswert bezeichnet wurde.

Geräte zum Messen und Belichten

Für die Vorversuche reichte eine Hg-Lampe vom Typ CS 150 von Philips aus. Zwei in den Strahlengang gebrachte Quarzlinsen und ein Oberflächen-Planspiegel ermöglichten eine Belichtung der Präparate in horizontaler Lage in einem homogen ausgeleuchteten Lichtfeld. Die meisten Versuche mußten jedoch mit Xenon-Hochdrucklampen ausgeführt werden, da nur sie die erforderlichen hohen Intensitäten im kurzwelligen Spektralbereich außerhalb der Hg-Linien liefern. Ich arbeitete mit den Typen XBO 162 und XBO 501. Bei den Versuchen zur Wirkung langwelliger Strahlung kam neben den Xenon-Lampen eine Niedervoltlampe zur Anwendung.

An Gläsern und Filtern verwendete ich verschiedene Farbgläser sowie Interferenzlinien- und -bandfilter von Schott & Gen. Die Bandfilter (AL-Filter) ermöglichen auf Grund ihrer relativ hohen Durchlässigkeit ein Arbeiten in weiten Intensitätsbereichen, wozu sich die Linienfilter (IL-Filter) wegen ihrer geringen Durchlässigkeit für unsere Versuche weniger eignen. Da die Halbwertsbreite der AL-Filter meist bei 20 nm, und so bedeutend über jener der IL-Filter liegt, ist der Intensitätsgewinn mit einem Verlust an spektraler Reinheit verbunden; dieser ist jedoch bei den meisten Versuchen ohne Bedenken in Kauf zu nehmen.

Oft reichten selbst die Intensitäten, die wir hinter den AL-Filtern erzielten, nicht für unser Versuchsprogramm aus. Wir griffen dann unter völligem Verzicht auf spektrale Reinheit auf die Farbgläser BG 7 (Schott & Gen.) und K 2 (Balzer) zurück, die im wesentlichen nur den gesamten wirksamen Spektralbereich durchlassen.

Da eine Regulierung der Intensitäten über die Leistung der Lampen technisch hier nicht möglich war und der Lampenabstand aus methodischen Gründen nicht variiert werden konnte, bedienten wir uns einer Serie von Neutralgläsern (NG 3, 4, 5 und 11 von Schott & Gen.). — Die Wärmestrahlung wurde bei sämtlichen Versuchen durch das Wärmeschutzglas KG 1 (2 mm) absorbiert.

Zu den meisten Versuchen mit polarisiertem Licht eignete sich das Bernotar von C. Zeiss sehr gut; im Spektralbereich um 370 nm bewährte sich die UV-Polarex-Folie von Käsemann auf Grund ihrer hohen UV-Durchlässigkeit.

Intensitätsmessungen wurden für die Hauptversuche mit einer Kipp-Thermosäule in Verbindung mit einem Multiflex-Galvanometer vorgenommen (Empfindlichkeit: 1 Sktl entspricht 160 erg • cm^{-2} • $sec.^{-1}$). In den Vorversuchen mit Weißlicht verwendete ich für Relativmessungen ein Luxmeter.

Die Präparate wurden nach dem Richten, außer von der Versuchsbelichtung, nur noch von dem intensitätsschwachen Grünlicht der Mikroskopleuchte (BG 18 + GG 14: Sicherheitslicht) bzw. der Dunkelkammerleuchte (Osram-Leuchtstoffröhre HNF 90/3) getroffen; dadurch war eine Störung der Reaktion durch „falsches" Licht ausgeschlossen. Zur Bewältigung differenzierter Belichtungsprogramme, besonders bei den Intermittierungsversuchen, wurde ein besonderer Belichtungskasten entwickelt (Abb. 1):

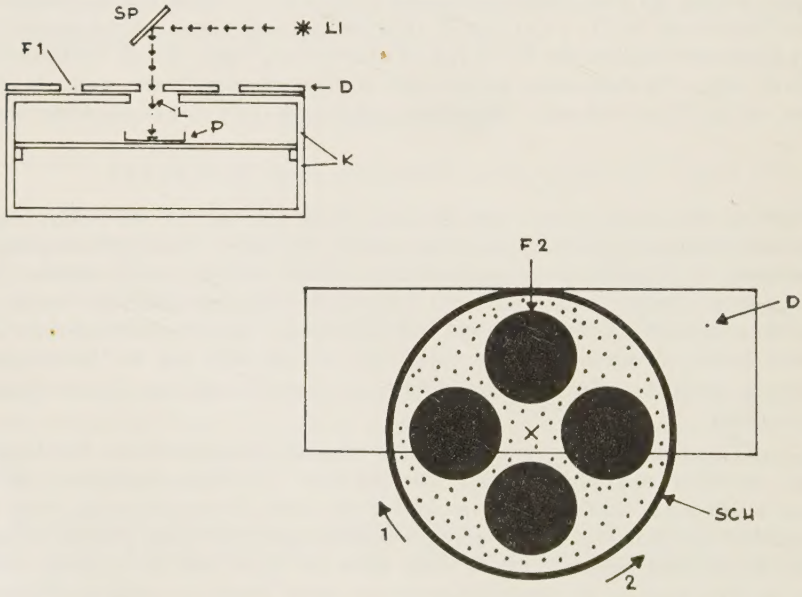


Abb. 1: Ein Kasten für Versuche mit intermittierender Belichtung (siehe Text!).

Der im Innern geschwärzte Kasten (K) ist mit einem Zwischenfach zur Aufnahme des Präparates (P) versehen. Die Xenon-Lampe (Li) wirft über einen Oberflächenspiegel (Sp) das Licht durch zwei Öffnungen (F) zur Aufnahme von Interferenzfiltern sowie NG-Gläsern oder schwarzer Metalldeckel. Je nach dem Versuchsprogramm wurde der Deckel (D) so verschoben, daß Metalldeckel oder Filter über der Deckenöffnung (L) zu stehen kam. Bei Programmen mit mehr als zwei verschiedenen Spektralbereichen in jeder Periode wurde der Deckel festgestellt und durch eine drehbare „Filter-Scheibe" (Sch) ergänzt. Die Filter-Scheibe kann 4 verschiedene Filter aufnehmen und ermöglichte dadurch die reibungslose Durchführung aller hier geforderten Intermittierungsprogramme.

C. Experimenteller Teil

I. Vorversuche

Im Versuchsprogramm zur Schwachlicht-Bewegung folgt auf die Belichtung (Induktion) eine Dunkelphase von ungefähr 45 Minuten, in der die Schwachlicht-Reaktion abläuft und die maximale Reaktionshöhe erreicht wird (Haupt 1959). Nach den Angaben von Lewis soll auch bei der Starklicht-Bewegung der Reaktionswert nach der Induktion, also nach Belichtungsende noch 30 Minuten lang im Dunkeln beträchtlich ansteigen, jedenfalls bei kurzen Belichtungen. Wir hätten danach auch hier vor der Auswertung diese Nachwirkung abzuwarten. Das Experiment konnte die Angaben von Lewis in keiner Weise bestätigen, im Gegenteil: Die Reaktionshöhe blieb während ungefähr der ersten 10—20 Minuten nach Beendigung der Induktion unverändert, um dann in den darauffolgenden 20—40 Minuten rapide abzufallen (vgl. Abb. 2 unter Kurve, S. 238). Bei sämtlichen nun folgenden Versuchen wurde daher die Auswertung in den ersten 10 Minuten nach Belichtungsende vorgenommen. Daneben interessierte uns die Ursache für den Abfall der Kurve. Blau-Licht induziert nicht nur bei hoher Intensität Profilstellung (Starklicht-Bewegung), sondern durch geringe Blau-Intensitäten kann auch Flächenstellung hervorgerufen werden (Haupt 1959). So wäre denkbar, daß das Absinken der Profilwerte nach Beendigung der Versuchsbelichtung (Blau) auf einer solchen Induktion beruht; sie könnte sich nach Beendigung der Starklicht-Bewegung ungehindert auswirken, denn eine Schwachlicht-Induktion wirkt ja längere Zeit nach (Haupt 1959) — im Gegensatz zur Starklicht-Induktion (s. o.).

Einige Versuche bestätigten diese Vermutung (Abb. 2). Unmittelbar an die Induktionsbestrahlung mit Blau (BG 7) schloß sich eine Dunkelrot-Belichtung (DR) [Nieder-Volt-Lampe, RG 9 + KG 1] von einigen Minuten an; ich kontrollierte wiederholt die Profilwerte. Abb. 2 (obere Kurve) zeigt, daß die mit DR nachbestrahlten Präparate ihren einmal erreichten Reaktionswert über 2 $^1/_2$

Stunden hindurch unverändert hielten, während die Kontrollen ohne DR-Nachbestrahlung (untere Kurve) in ihren Reaktionswerten rapide abfielen, ganz entsprechend den oben geschilderten Verhältnissen.

Diese Rückdrehung begann mit starken Torsionen der Chloroplasten; die DR-nachbestrahlten Präparate zeigten derartige Torsionen dagegen erst nach 2 1/2 Stunden. Die Versuche wurden in entsprechender Weise mit den Filtern AL 484 nm (Blau) und AL 729 nm (DR) ausgeführt und brachten übereinstimmende Resultate.

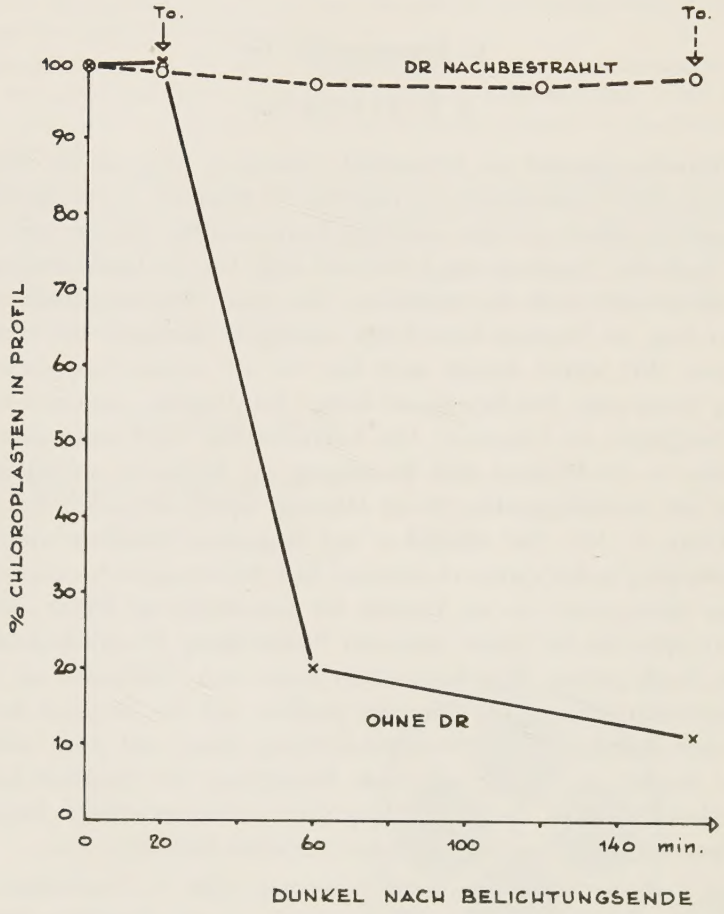


Abb. 2: Dunkelrot nach Starklichtende. An die Induktion (BG 7) schloß sich direkt eine DR-Bestrahlung (RG 9 + KG 1) von 2,5 min. an; im Kontrollversuch unterblieb diese DR-Bestrahlung. Abszisse: Zeitpunkt der Auswertung. Ordinate: Reaktionswert. To: beginnende Torsion einzelner Chloroplasten.

Es ist denkbar, daß die Reaktionshöhe ungünstig beeinflußt wird, wenn die vorhergehende Schwachlicht-Induktion (Richten) sich noch nicht vollständig ausgewirkt hat. Das Material könnte durch das Richten außerdem abgestumpft werden, so daß eine sich anschließende Dunkelphase sensibilisierend für die nachfolgende Induktion sein könnte, ganz entsprechend den Ergebnissen bei der Schwachlicht-Bewegung (HAUPT 1959). Wurde diese Dunkelzeit unter sonst konstanten Bedingungen verändert, so stieg die Reaktion mit zunehmender Dunkelvorbehandlung an (Abb. 3); nach 30 bis 40 Minuten war der Steilanstieg beendet. [Auf eine kausale Erklärungsmöglichkeit soll später eingegangen werden (s. S. 266 und Abb. 22)]. Für die weiteren Versuche schließen sich deshalb Dunkelzeiten zwischen 40 und 50 Minuten an das „Richten" an; Dunkelzeiten

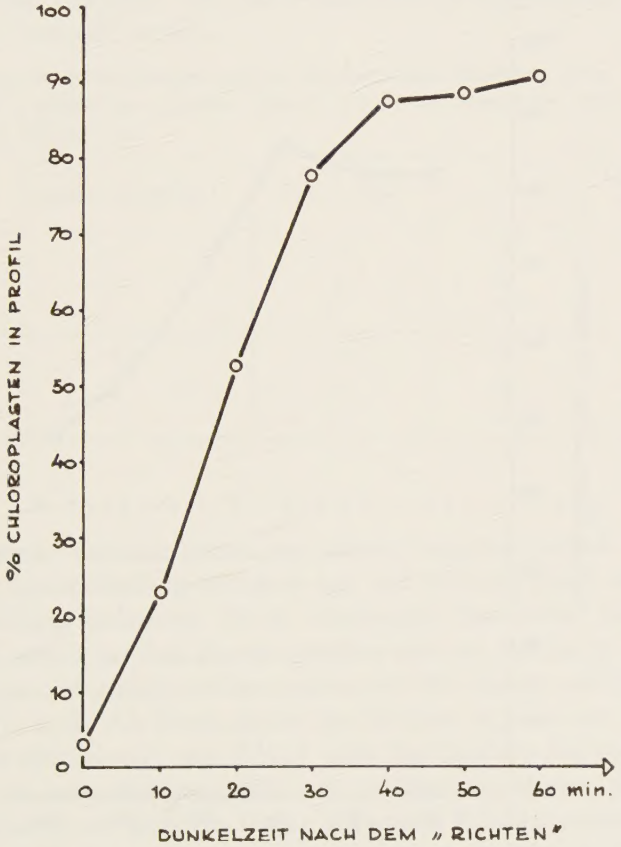


Abb. 3: Die Reaktionsfähigkeit bei verschieden langer Dunkelheit nach dem Richten (Abszisse). Ordinate: Reaktionswert nach einheitlicher Induktion durch Weißlicht (25 000 Lux; 10 Min.). Dauer des Richtens: 60 min.

von über einer Stunde sind dagegen nicht ratsam, da sich hierbei schon eine merkliche Erhöhung des Nullwertes durch teilweises Zurückdrehen der Chloroplasten bemerkbar macht.

Durch das „Richten" erreichen wir, daß zu Beginn der Versuchsbelichtung so gut wie sämtliche Chloroplasten Flächenstellung eingenommen haben — vorausgesetzt, wir „richten" lange genug. Es ist denkbar, daß neben der oben erwähnten Nachwirkung, deren Einfluß auf die Starklicht-Bewegung durch eine Dunkelphase weitgehend ausgeschaltet werden kann, eine zusätzliche Desensibilisierung stattfindet. Diese müßte sich um so stärker auf die Reaktion auswirken, je länger das „Richten" dauert. Die Vermutung konnte bestätigt werden (Abb. 4); deshalb „richten" wir in den folgenden Versuchen das Material 20—30 Minuten lang, jedoch innerhalb einer Versuchsgruppe gleich lang.

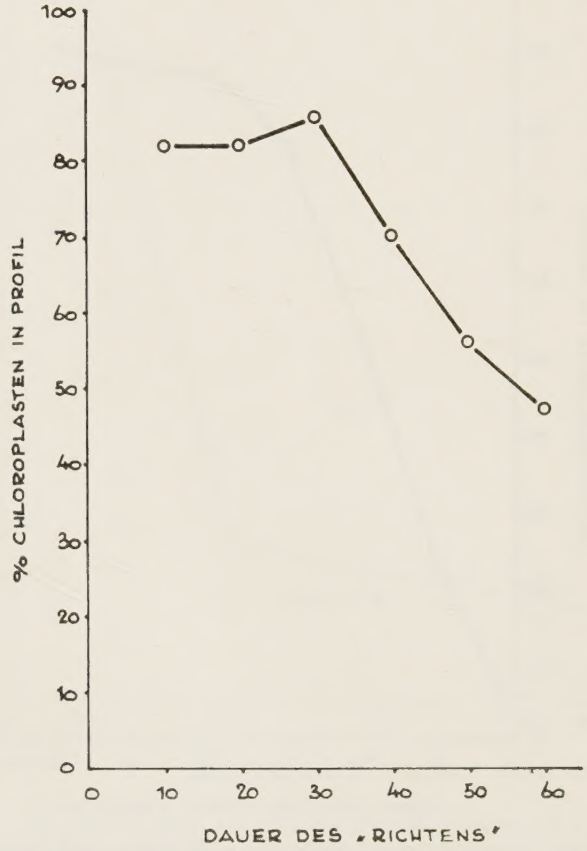


Abb. 4: Die Reaktionsfähigkeit bei verschieden langer Dauer des Richtens (Abszisse). Ordinate wie bei Abb. 3. Dunkelheit nach dem Richten 30 min.

Bevor wir die spektrale Wirksamkeitsverteilung eingehender untersuchen, ist es ratsam, nach der Gültigkeit des Reizmengen-Gesetzes (RMG) zu fragen. Ist es für die Reaktion gleichgültig, wie sich eine bestimmte Strahlungsenergie aus Intensität mal Zeit zusammensetzt, — können wir also bei konstantem Produkt die Größen von Zeit und Intensität frei komibinieren? Sollte sich die Gültigkeit des RMG auch für die Starklicht-Reaktion ergeben, so könnten anstelle komplizierter Intensitätsregulierungen einfache Änderungen am Zeitfaktor treten. Versuche in Blaulicht (BG 7) abgestufter Intensität und Belichtungszeit sind in Tab. 1 dargestellt; daraus ist klar zu ersehen, daß das RMG in den geprüften Kombinationen keine Gültigkeit hat. Verkürzung der Zeit bei Erhöhung der Intensität hatte ein starkes Absinken der Reaktion zur Folge. Der Zeitfaktor darf daher innerhalb zu vergleichender Versuchsserien nicht verändert werden.

Tab. 1: Prüfung des Reizmengengesetzes bei kontinuierlicher Belichtung hinter BG 7 + KG 1. a und b stellen zwei geprüfte Produkte (i × t) dar. Einheit der relativen Intensität: 18 000 erg/cm² • sec.

Nr.	relative Intensität	Zeit in Min.	I × t	Reaktionswert (% Kante)
a	4	3	12	2
	2	6	12	27
	1	12	12	65
b	4	5	20	18
	2	10	20	55
	1	20	20	80

II. Spektrale Wirksamkeitsverteilung

Orientierende Versuche bestätigten frühere Angaben, wonach hohe Intensitäten des Spektralbereichs zwischen 400 und 500 nm, sowie das nahe UV die Profilstellung induzieren (Senn, Mosebach). Das sollte nun präzisiert werden. Ich wählte aus dem Bereich zwischen 400 und 500 nm 11 Interferenzlinienfilter aus und stimmte die Intensitäten mit NG-Gläsern auf Quantengleichheit ab. Als Norm diente das IL-Filter 425 nm mit einer Intensität von 10 000 erg/cm² • sec. Abb. 5 zeigt die Reaktion auf quantengleiche Strahlung bei einer Belichtungszeit von 10 Minuten. Hinter dem Filter IL 510 nm erzielten wir auch bei länger dauernden Belichtungszeiten und denselben Intensitäten keine Reaktion, wogegen hinter IL 370 nm dann deutliche Reaktionen zu erkennen waren. Das Wirkungsmaximum unseres Spektrums liegt zwischen 450 und 480 nm.

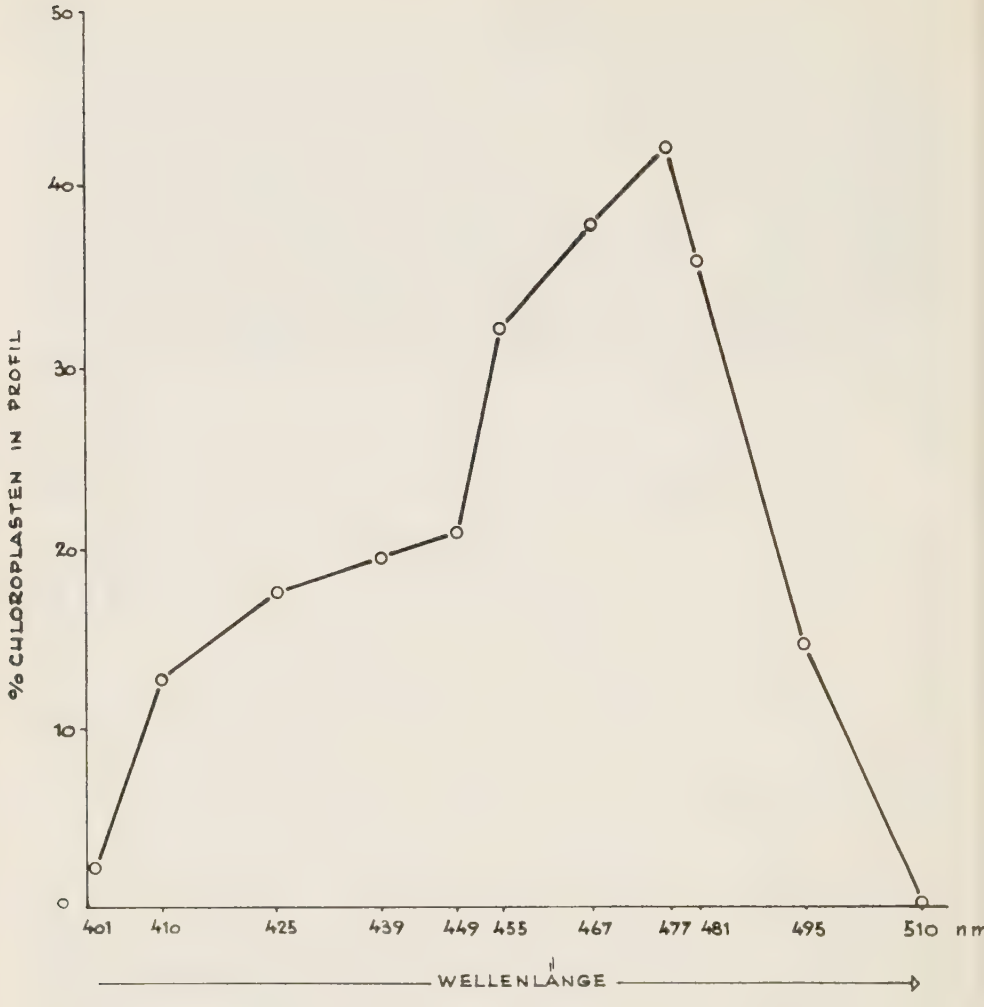


Abb. 5: Die Wirkung quantengleicher Strahlung verschiedener Wellenlängen. Ordinate: Reaktionswert. Intensität bei 425 nm = 10 000 erg/cm² • sec. Belichtungszeit 10 min.

Eben sahen wir die unterschiedliche Reaktion auf quantengleiche Bestrahlung. Um die Wirksamkeit verschiedener Wellenlängen quantitativ vergleichen zu können, fragen wir nun andererseits nach dem Quantenbedarf für eine Reaktion bestimmter gleicher Höhe. Wir wählten aus dem Reaktionsspektrum 3 Bereiche, die wir quantitiv auf ihre Dosis-Effektbeziehungen untersuchten; dabei kamen wir zu den in Abb. 6 wiedergegebenen Dosis-

Effekt-Kurven. Störend ist an dem durchaus gesicherten Verlauf das Flacherwerden sämtlicher Kurven bei weiter ansteigenden Intensitäten. Nur im ersten Anstieg verlaufen die Kurven mehr oder weniger parallel zueinander, so daß innerhalb dieses Steilanstieges der Parameter zu wählen ist. Er liegt bei 19 %. Beim Vergleich mit Abb. 5 ist bemerkenswert, daß die Quantenwirksamkeit von 447 nm nur unbedeutend hinter der von 477 nm zurückliegt. In Anbetracht des als Parameter verwendeten niederen Reaktionswertes sind diese Ergebnisse jedoch nur als vorläufig zu betrachten. — Ich komme auf die spektrale Verteilung der Wirksamkeit später bei Verwendung polarisierter Induktionsstrahlung noch einmal zurück.

In Anbetracht des eben erreichten eigenartigen Verlaufs der Dosis-Effekt-Kurven interessiert nun noch, wie sich diese Kurven fortsetzen, wenn wir die

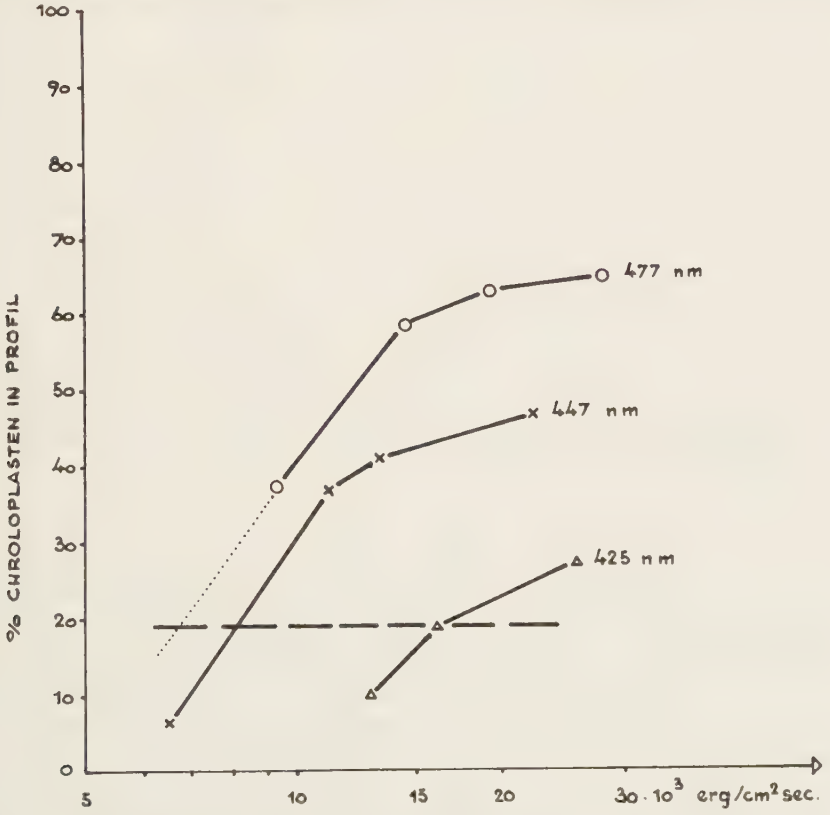


Abb. 6: Dosis-Effekt-Kurven für verschiedene Wellenlängen. Abszisse: Intensität in log. Maßstab. Ordinate: Reaktionswert. Gestrichelte Linie: Reaktionswert 19 %. Belichtungszeit 10 min.

Intensitäten noch weiter erhöhen. Hier mußte ich naturgemäß auf das Breitbandfilter K 2 oder das Blauglas BG 7 zurückgreifen (s. S. 236). Die Versuche ergaben übereinstimmend, daß die Reaktion bei einer für jeden Spektralbereich wohl etwas voneinander abweichenden Intensität rapide abzusinken beginnt (Abb. 7). Weitere Intensitätserhöhungen führten nahezu zu einer völligen Unterdrückung der Starklicht-Reaktion. Eine Analyse soll unter den physikalisch übersichtlicheren Bedingungen polarisierten Lichtes versucht werden (s. S. 259 ff.).

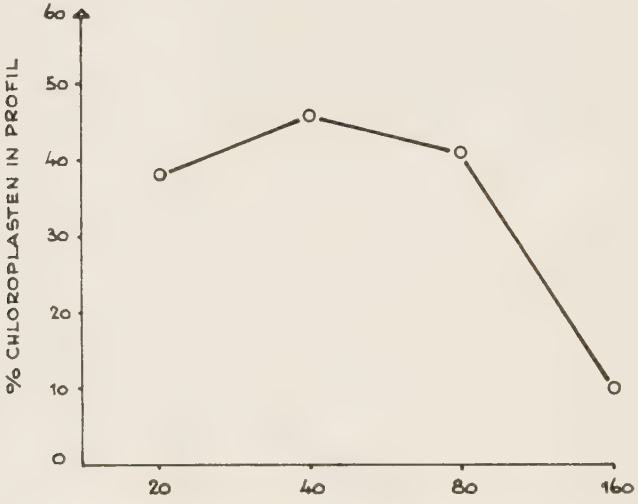


Abb. 7: Dosis-Effekt-Kurve für den Strahlungsbereich hinter dem Breitbandfilter K 2. Abszisse: Intensität in 10^3erg/cm^2 • sec. in log. Maßstab. Ordinate: Reaktionswert. Belichtungszeit 10 min.

III. Intermittierende Belichtung

In den bisher besprochenen Versuchen wurde die Versuchsbelichtung kontinuierlich eingestrahlt. Es ergibt sich nun die Frage, ob die Starklicht-Bewegung bei *Mougeotia* wirklich diese kontinuierliche Belichtung benötigt, oder ob eine Anzahl kurzer Induktionsbelichtungen, die durch Dunkelphasen jeweils voneinander getrennt sind, derart summiert werden können, daß eine Reaktion eintreten kann. Orientierende Versuche wiesen darauf hin, daß bei der Starklicht-Bewegung auch durch intermittierende Belichtung Kantenstellung der Chloroplasten erreicht werden kann. In Abb. 8 (ausgezogene Kurven, BG 7) ist das Ergebnis folgender Versuchsserien wiedergegeben: Die eine Gruppe von Präparaten bekam die Belichtung kontinuierlich, die andere inter-

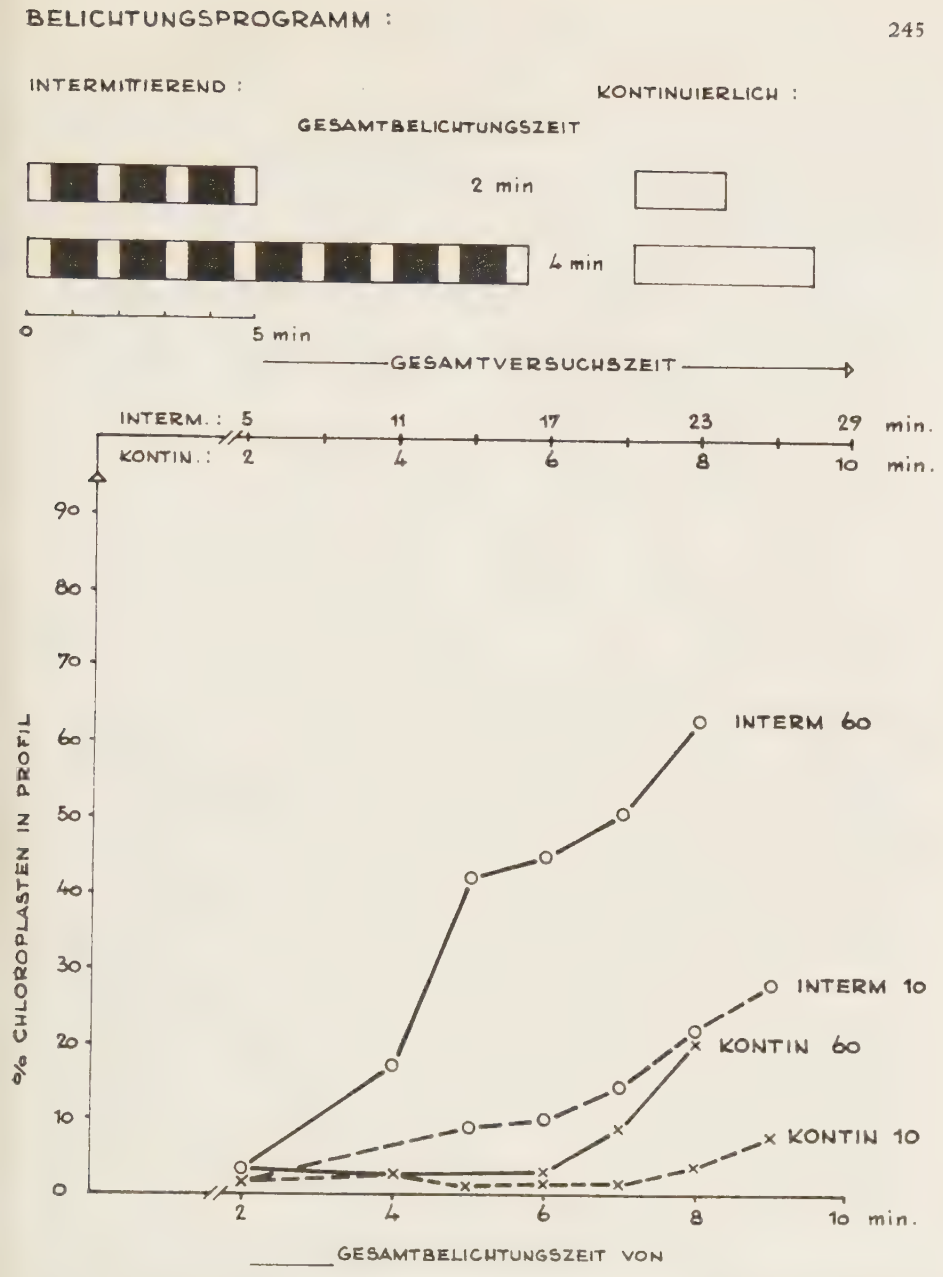


Abb. 8: Vergleich von intermittierender und kontinuierlicher Belichtung bei gleicher Gesamtbelichtungszeit (untere Abszisse); die Gesamtversuchszeit (obere Abszisse) ist demgemäß verschieden. Ordinate: Reaktionswert. Intensitäten an den Kurven in 10^3 erg/cm^2 • sec. angegeben.

mittierend (30 sec Licht : 60 sec Dunkel). Die Belichtungszeit wechselte von Präparat zu Präparat. Die Reaktionswerte der Präparate mit gleicher Gesamtbelichtungszeit (intermittierend oder kontinuierlich) stehen senkrecht untereinander. Wir erkennen daraus, daß eine bestimmte Reizmenge durch intermittierende Belichtung bedeutend höhere Reaktionen bewirkte als durch kontinuierliche Bestrahlung. Es zeigt sich sogar, daß im Intermittierungsversuch Reizmengen zu deutlichen Reaktionen führten, die bei kontinuierlicher Belichtung unterschwellig waren (vgl. Gesamtbelichtungszeit 4 bis 6 min.). Ein Parallelversuch mit herabgesetzter Intensität führte grundsätzlich zum gleichen Ergebnis (gestrichelte Kurven der Abb. 8, AL 484).

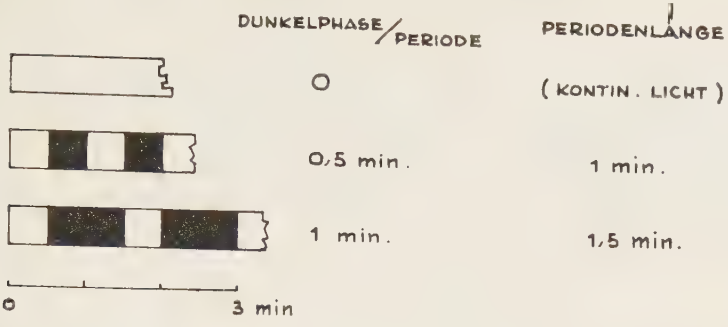
Diese Versuche lassen es nun lohnend erscheinen, einige weitere Fragen zur intermittierenden Belichtung in Angriff zu nehmen.

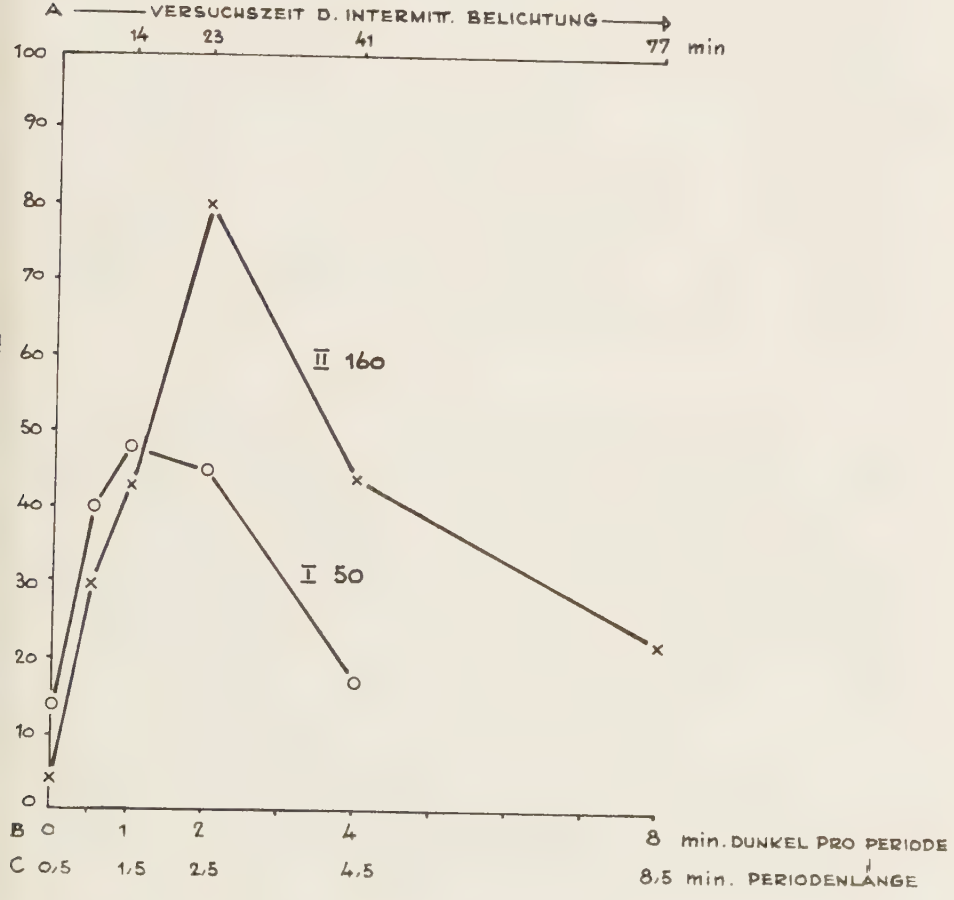
1. Die Dauer der Dunkelphase bei konstanter Belichtungszeit

In diesen Versuchen möchte ich aufzeigen, wie sich die Reaktion ändert, wenn die Dunkelphase von Präparat zu Präparat verändert wird und die Anzahl der Perioden sowie die Lichtphasen und die Gesamtbelichtungszeit konstant bleiben. Auch hier werden zwei unabhängig voneinander durchgeführte Versuche dargestellt, deren Intensitäten nicht quantitativ miteinander verglichen werden dürfen, da sie mit verschieden breiten Spektralbereichen erhalten wurden. Abb. 9 gibt das Programm und das Ergebnis dieser Versuche wieder; die günstige Wirkung intermittierend gebotener Belichtungen zeigt sich hier sehr eindrucksvoll. Ein Vergleich beider Kurven läßt zunächst einen ähnlichen Verlauf erkennen. Bedeutend erscheint mir jedoch, daß das Maximum bei II gegenüber I zur längeren Dunkelphase hin verschoben ist. Weiter ist überraschend, daß bei den Dunkelphasen bis zu 1 min. die Reaktionswerte trotz höherer Intensität die Höhe der Kurve I nicht erreichen. Erst bei längeren Dunkelphasen übersteigt Kurve II die Werte von Kurve I. 10 Reize von nur je $^1/_2$ min. lassen sogar über 77 Minuten verteilt noch eine deutliche Reaktion erkennen (Kurve II).

Abb. 9: Intermittierende Belichtung mit Perioden gleichlanger Lichtphase, aber verschiedenlanger Dunkelphase (Abszisse B); vgl. Schema des Belichtungsprogramms. Zahl der Perioden = 10, damit Gesamtbelichtungszeit konstant = 5 min., aber Gesamtversuchszeit verschieden (Abszisse A). Ordinate: Reaktionswert. Intensitäten 50 000 erg/cm² • sec. (Kurve I, BG 7) bzw. 160 000 erg/cm² • sec. (Kurve II, Filter K 2). Abszissenwert Null = kontinuierliche Belichtung von 5 min.

PROGRAMM :


DUNKELPHASE / PERIODE
PERIODENLÄNGE
0
(KONTIN. LICHT)
0,5 min.
1 min.
1 min.
1,5 min.
0
3 min


A
VERSUCHSZEIT D. INTERMITT. BELICHTUNG
14
23
41
77 min
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
II 160
I 50
B 0 1 2 4 8 min. DUNKEL PRO PERIODE
C 0,5 1,5 2,5 4,5 8,5 min. PERIODENLÄNGE

2. Die Anzahl und Länge der Perioden bei konstanter Versuchszeit

In den bisherigen Versuchen zur intermittierenden Belichtung änderte sich von Präparat zu Präparat stets auch die Versuchszeit. Jetzt wollen wir die Anzahl und damit die Länge der Perioden von Präparat zu Präparat variieren, dabei die Versuchszeit und innerhalb einer Gruppe auch das Verhältnis der Phasen (Licht : Dunkel) zueinander konstant halten. Ich untersuche zwei Gruppen, die insofern direkt miteinander vergleichbar sind, als in beiden Gruppen gleiche Energiemengen eingestrahlt werden; das Verhältnis der Phasenlängen beträgt in den Gruppen:

I Licht : Dunkel = 2 : 1
II Licht : Dunkel = 1 : 2

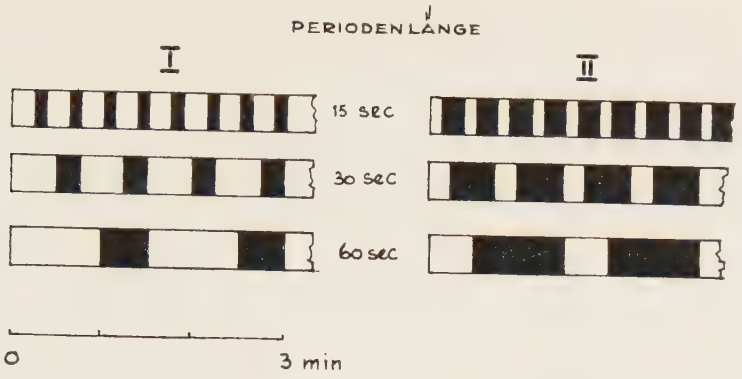
Das Belichtungsprogramm sowie das Ergebnis der Versuche ersehen wir aus Abb. 10. Die Kurven sagen aus, daß es nicht gleichgültig ist, ob wir die Periodenlänge (und damit die Periodenzahl) bei konstanter Versuchszeit verändern oder konstant halten. Die Kurve I fällt mit zunehmender Periodenlänge merklich ab. Kurve II dagegen fällt von dem Punkt einer optimalen Periodenlänge (30 sec.) bzw. Periodenzahl (20) nach links und rechts hin ab.

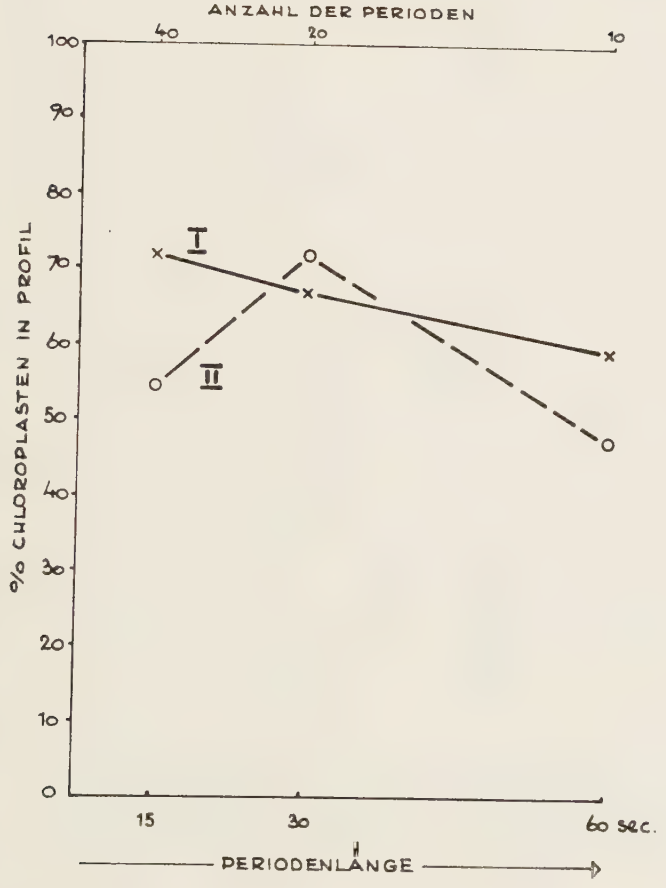
Für beide Kurven strahlten wir die gleiche Energie ein — und dennoch zeigen sie mindestens bei kurzen Perioden (15 sec.) voneinander völlig abweichende Reaktionswerte. Dieses Ergebnis stellt uns die Aufgabe, die Gültigkeit des RMG bei der intermittierenden Belichtung eingehender zu prüfen; aussichtsreich erscheint dabei nur der Bereich längerer Perioden (30—60 sec.).

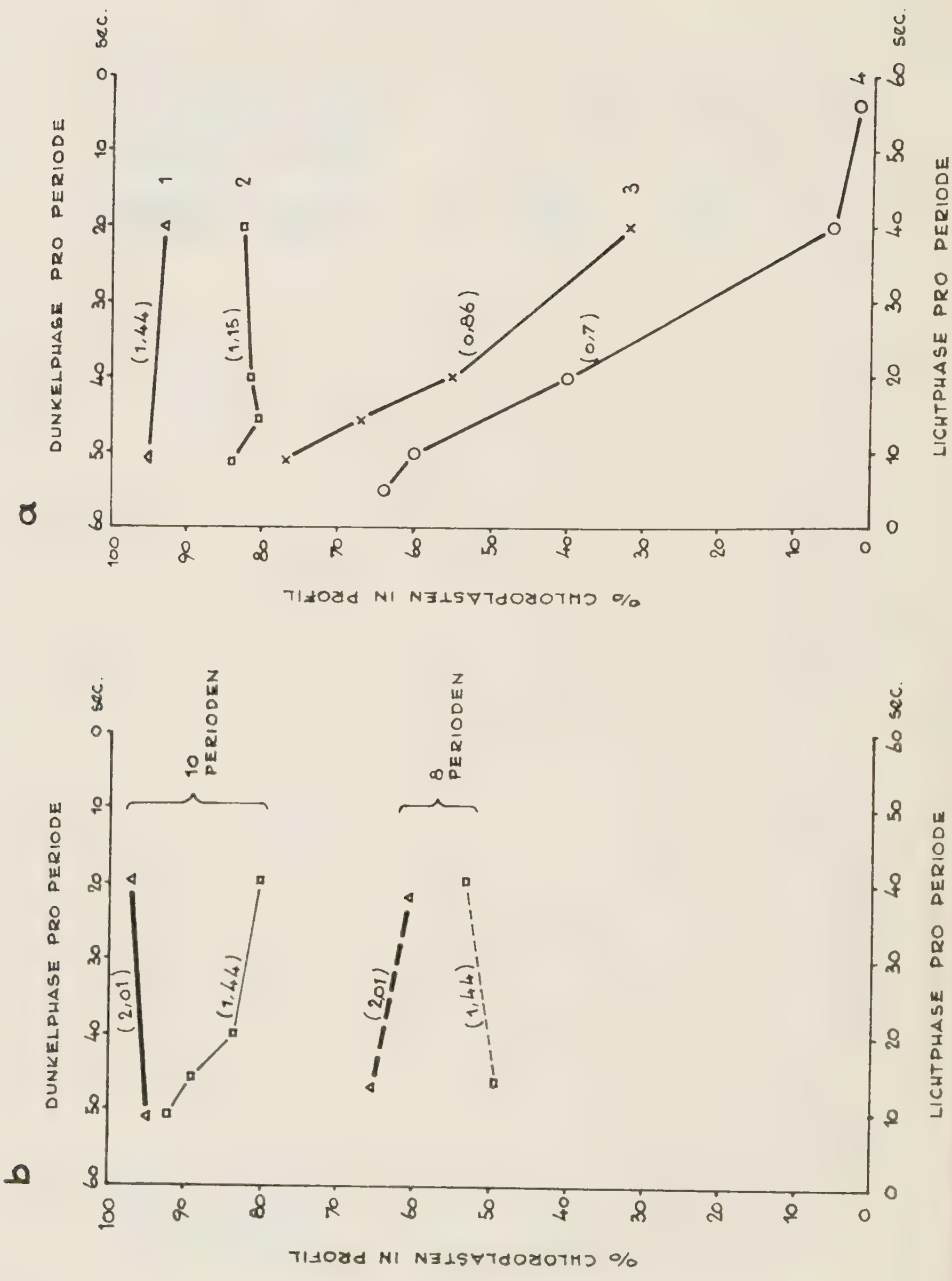
3. Das Reizmengen-Gesetz und die intermittierende Belichtung

In den folgenden Versuchen müssen wir für die Kombination von Zeit und Intensität genügend Spielraum haben; nur dadurch können verschiedene Reizmengen in verschiedenen Kombinationen mit Hoffnung auf Erfolg geprüft werden. Die Periodenlänge von 60 Sekunden sowie die Intensitäten, die hinter dem Blauglas BG 7 zu erreichen sind, entsprechen diesen Anforderungen. Der Verlust an spektraler Reinheit ist hier kaum von Bedeutung, da das BG 7 grob den Durchlässigkeitsbereich des Wirkungsspektrums in Abb. 5 besitzt. Zur Prüfung gelangen zunächst die Reizmengen 1,44 — 1,15 — 0,86 und 0,7 Millionen erg/cm² in verschiedenen Kombinationen;

Abb. 10: Intermittierende Belichtung mit unterschiedlicher Periodenlänge und Periodenzahl (Abszisse) bei konstanter Versuchszeit (10 min.) und konstanter Reizmenge (gesamte eingestrahlte Energie $24 \cdot 10^6$ erg/cm²). Ordinate: Reaktionswert. Intensitäten $60 \cdot 10^3$ (Kurve I) bzw. $120 \cdot 10^3$ erg/cm² · sec. (Kurve II).


PERIODENLÄNGE
I
II
15 sec
30 sec
60 sec
0
3 min


ANZAHL DER PERIODEN
40
20
10
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
% CHLOROPLASTEN IN PROFIL
I
II
15
30
60 sec.
PERIODENLÄNGE


a
DUNKELPHASE PRO PERIODE
LICHTPHASE PRO PERIODE
% CHLOROPLASTEN IN PROFIL
(1,44)
(1,15)
(0,86)
(0,7)
1
2
3
4
b
DUNKELPHASE PRO PERIODE
LICHTPHASE PRO PERIODE
% CHLOROPLASTEN IN PROFIL
10 PERIODEN
8 PERIODEN
(2,01)
(1,44)
(2,01)
(1,44)

sie entsprechen den in Klammern gesetzten Zahlen an den vier Kurven (1–4) der Abb. 11a. Das Ergebnis dieser Versuche zeigt uns, daß das Reizmengen-Gesetz nur für die beiden oberen Kurven Gültigkeit hat.

Der naheliegende Einwand, diese beiden Kurven würden die Gültigkeit des RMG nur scheinbar wiedergegeben, da sie im Sättigungsbereich der Reaktion lägen, kann durch die in Abb. 11b dargestellten Versuchsergebnisse entkräftet werden: Wenn die Versuchszeit nur 8 min beträgt, tritt kein grundsätzlicher Unterschied im Kurvenverlauf zutage (gestrichelte Kurve).

Als Ergebnis halten wir fest, daß der Übergang von Gültigkeit zu „Nicht-Mehr-Gültigsein" des RMG nicht fließend verläuft, sondern sich in einem sehr engen Energie-Bereich abspielt.

4. Intermittierende und kontinuierliche Belichtung bei konstanter Versuchszeit

Wir zeigten, daß trotz gleicher Reizmenge durch intermittierende Belichtung gegenüber kontinuierlicher Belichtung höhere Reaktionen erzielt werden können (Abb. 8); weiter konnte der Einfluß der Periodenlänge bzw. der Periodenzahl bei konstanter Versuchszeit bewiesen werden (Abb. 10). Wir fragen uns nun, ob es bei günstiger Kombination und Auswahl von Intensität, Periodenlänge, Periodenzahl und Phasenverhältnis möglich sein wird, selbst bei konstanter Versuchszeit und gleicher Intensität die Reaktionswerte im Intermittierungsversuch gegenüber denen der kontinuierlich belichteten Präparate zu halten oder gar zu steigern. In drei Versuchsgruppen gehe ich an die Beantwortung dieser Frage. Für jede Gruppe sind Periodenzahl, Intensität und Phasenverhältnis verschieden, aber in den Größenordnungen gewählt, die sich in den vorigen Versuchen bewährt haben; — die Versuchszeit ist für alle drei Gruppen konstant und beträgt 10 Minuten. Das Ergebnis ist unerwartet (Abb. 12)! Die Werte der kontinuierlichen Belichtung können innerhalb einer Gruppe im Intermittierungsversuch, also bei geringerer Gesamtbelichtung, nicht nur erreicht werden (B) — sie können sogar erheblich übertroffen werden (C): Das läßt vermuten, daß die Dunkelphasen einen sensibilisierenden Einfluß auf das Reaktionssystem ausüben; die Bedeutung von Vorgängen, die während einer solchen Dunkelphase ablaufen, wird sich auch noch aus den Versuchen des nächsten Kapitels ergeben.

Abb. 11: a) Der Gültigkeitsbereich des Reizmengen-Gesetzes bei intermittierender Belichtung konstanter Periodenlänge (60 sec.) und Periodenzahl (10). Zu jeder Kurve gehört eine konstante Reizmenge, deren Energie pro Periode in 10^6 erg/cm^2 angegeben ist und die sich in verschiedener Weise aus Intensität und Zeit (untere Abszisse) zusammensetzt. Ordinate: Reaktionswerte. b) wie a), aber zusätzlich Zahl der Perioden variiert.

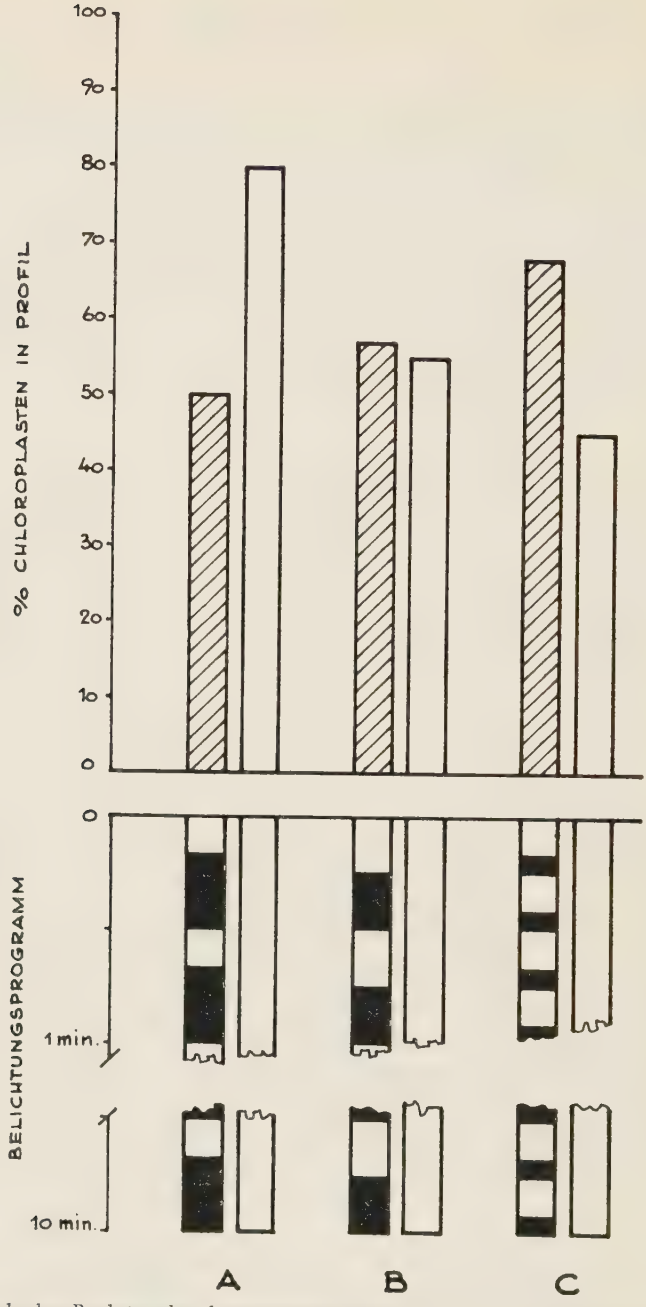


Abb. 12: Vergleich der Reaktion bei kontinuierlicher und intermittierender Belichtung konstanter Versuchszeit (10 min.) und paarweise gleicher Intensität (A: 100 000, B: 30 400, C: 60 000 erg/cm² • sec.). Belichtungsprogramm nach unten aufgetragen. Intermittierende Lichtphasen: 10 sec. (A, C) bzw 15 sec. (B).

IV. Die Wirkung von langwelliger Strahlung auf die Induktion durch Blaulicht

1. Dunkelrot während der Versuchsbelichtung

In den Vorversuchen hatten wir gesehen, daß die Rückdrehung der Chloroplasten in Fläche nach Starklichtende auf einer gleichzeitig erfolgten Induktion für Flächenstellung, also Induktion einer gegenläufigen Tendenz, beruht; durch DR kann diese Induktion gelöscht und dadurch der erreichte Profilwert über längere Zeit konstant gehalten werden (Abb. 2).

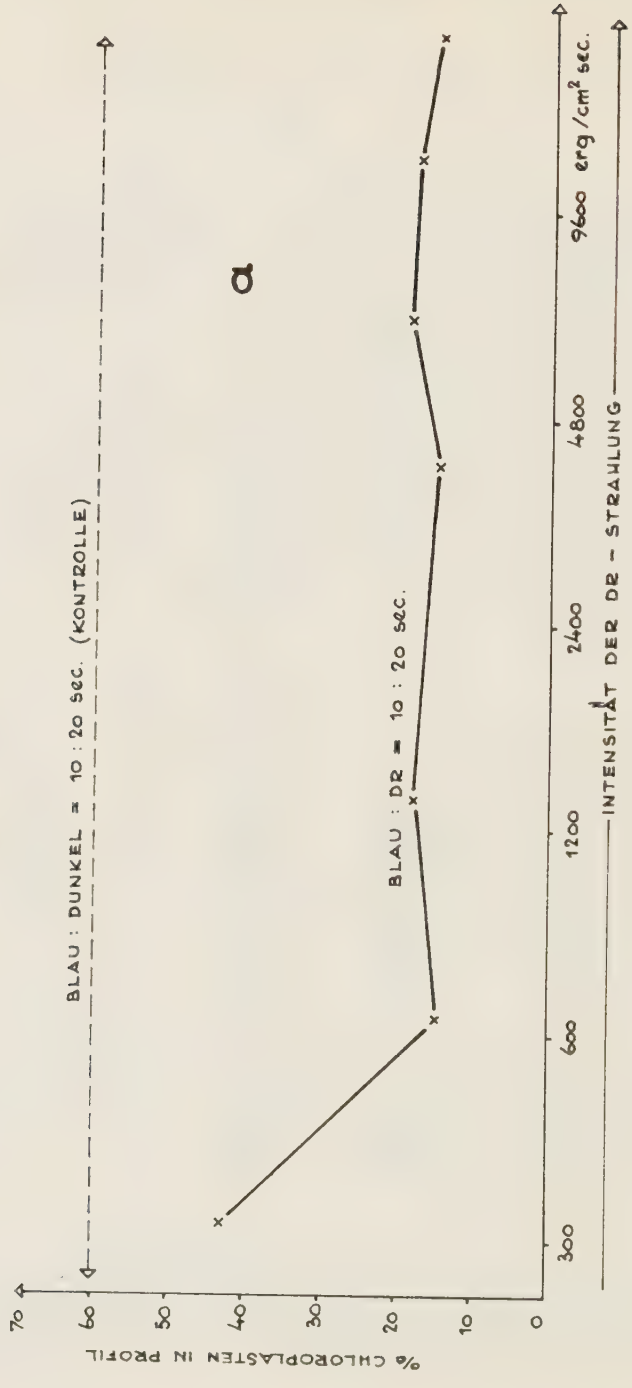
In den folgenden Versuchen hoffe ich nun, die Reaktion dadurch steigern zu können, daß ich die gegenläufige Bewegungstendenz schon während der Starklicht-Induktion durch eine gleichzeitige DR-Einstrahlung unterdrücke. In orientierenden Versuchen wird jedes Präparat wie bisher senkrecht von oben mit der Induktionsstrahlung (Blau) belichtet; DR erreicht das Präparat unter einem Winkel von ungefähr 75 ° (Nieder-Volt-Lampe, RG 9 + KG 1). Das Ergebnis ist völlig überraschend: Diese DR-Bestrahlung wirkt der Starklicht-Reaktion entgegen und zwar mit steigender DR-Intensität in zunehmendem Maße.

Bei einer näheren Analyse dieses unerwarteten Effekts müssen wir nun Fehlerquellen vermeiden, die sich aus den unterschiedlichen Einfallswinkeln von Blau und DR ergeben könnten. Wir gehen deshalb der Frage über die DR-Wirkung im Intermittierungsversuch nach; dadurch ist eine Bestrahlung mit beiden Lichtqualitäten exakt aus der gleichen Richtung möglich. Die Dunkelphasen der einen Gruppe sind in der zweiten Gruppe durch DR-Phasen ersetzt. Durch geeignete Wahl des Bestrahlungsprogramms läßt sich so durch DR z. B. eine Reaktion von 84 % auf 8 % herabdrücken.

Wir fragen uns nun, wie weit diese Wirkung von der DR-Intensität abhängig ist. Die Blau-Dunkel-Blau-Dunkel . . .-Kontrollen sollten Reaktionswerte im oberen ansteigenden Bereich erzielen, dadurch kann die unterschiedlich hemmende Wirkung des DR in den Blau-DR . . .-Präparaten gezeigt werden. In Abb. 13a sehen wir, daß die hemmende Wirkung des DR bereits bei recht niederen Intensitäten die Sättigung erreicht.

2. Hellrot während der Versuchsbelichtung

Ganz entgegen unseren Erwartungen fielen die letzten Versuche zur „DR-Wirkung während der Versuchsbelichtung" aus. Es drängt sich nun die Frage auf: Wie wirkt Hellrot-Strahlung (HR, 600—700 nm) in entsprechenden Ver-


a
BLAU : DUNKEL = 10 : 20 SEC. (KONTROLLE)
BLAU : DR = 10 : 20 SEC.
% CHLOROPLASTEN IN PROFIL
0
10
20
30
40
50
60
70
300
600
1200
2400
4800
9600 erg/cm² sec.
INTENSITÄT DER DR - STRAHLUNG

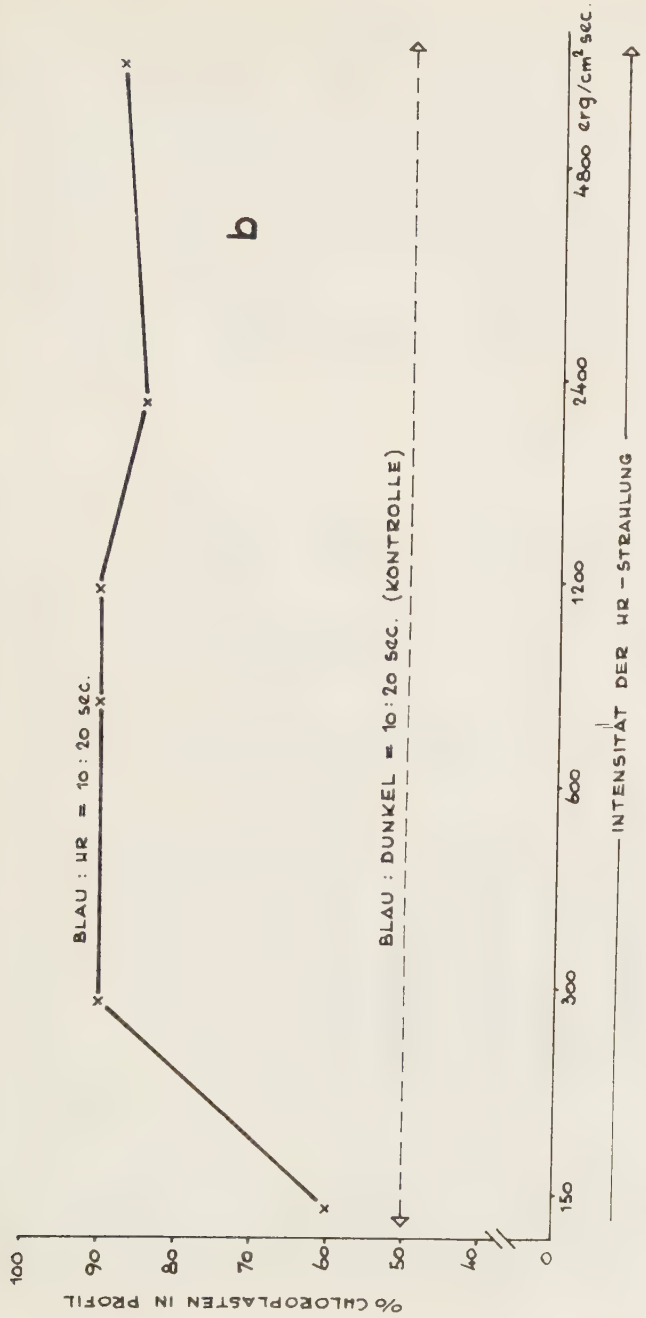


Abb. 13: a und b: Der Einfluß langwelliger Strahlung im Wechsel mit Blaulicht auf die Starklichtreaktion. a) Blau und Dunkelrot alternierend, b) Blau und Hellrot alternierend. Periodenlänge 30 sec., 20mal wiederholt. Blau: AL 471 nm, 37 000 (a), bzw. 30 000 erg/cm² • sec. (b). Dunkelrot: AL 729 nm, Hellrot: IL 679 nm.

suchen? Liegt der hemmenden Wirkung von DR das Phytochrom zugrunde, dann wäre denkbar, daß HR antagonistisch zu DR wirkt, also die Starklicht-Bewegung fördern könnte. Wir wagen andererseits die Spekulation kaum mehr auszusprechen, wonach HR mit Blau alternierend eingestrahlt, Flächenstellung induzieren und somit eigentlich die Starklicht-Bewegung hemmen müßte. Ich gehe den Fragen gleich in Versuchen mit intermittierender Belichtung nach. Wir vergleichen die Reaktion von Blau : Dunkel . . .-Präparaten mit jener der Blau : HR . . .-Präparate, wobei die Blau-Intensität so gewählt wird, daß die Reaktionswerte der Blau-Dunkel-Kontrollen im mittleren Bereich liegen. Hellrot hebt den Reaktionswert stark an; diese HR-Wirkung erreicht bereits bei recht niederen Intensitäten die Sättigung (Abb. 13b).

3. *Hellrot-Dunkelrot-Antagonismus*

DR hemmt, HR fördert die Starklichtbewegung, wenn die langwellige Strahlung w ä h r e n d der Versuchsbelichtung bzw. a l t e r n i e r e n d mit dieser eingestrahlt wird. Kann HR, nach DR gegeben, im Intermittierungsversuch die hemmende Wirkung aufheben (bzw. umgekehrt: DR die fördernde HR-Wirkung); finden wir hier also einen echten Hellrot-Dunkelrot-Antagonismus vor? Durch eine Versuchsserie, in der wir Blau-, DR-, HR- und Dunkelphasen verschieden kombinieren, können wir zeigen, daß die langwelligen Strahlungen sich in ihrer Wirkung auf die Starklichtbewegung unter gewissen Bedingungen gegenseitig weitgehend aufheben. In Abb. 14 ist die Phasenfolge innerhalb einer Periode (nach unten), sowie die Reaktion (nach oben) wiedergegeben. Betrachten wir die Präparate A, B und C, so zeigt sich, daß durch DR die Reaktion gegenüber der Kontrolle auf die Hälfte absinkt, wogegen sie durch HR nahezu verdoppelt wird. Besonders interessant ist der Vergleich der Werte für D und E: Bei D wird durch die unmittelbar an die DR-Phase sich anschließende HR-Strahlung der Einfluß von DR gänzlich aufgehoben, darüber hinaus kann sich die Förderung durch HR noch auswirken, in E dagegen scheinen Löschung des hemmenden DR-Einflusses durch HR, sowie die Förderung durch HR derart ausgeglichen zu sein, daß der Reaktionswert die Blau-Dunkel-Kontrolle (A) erreicht. Der Unterschied zwischen diesen beiden Versuchsgruppen (D und E) ist offenbar durch die zeitlich verschiedene Plazierung der Phasen innerhalb einer Periode verursacht. Das Gleiche könnte für die hemmende DR-Wirkung vermutet werden und soll daher in den folgenden Versuchen geprüft werden.

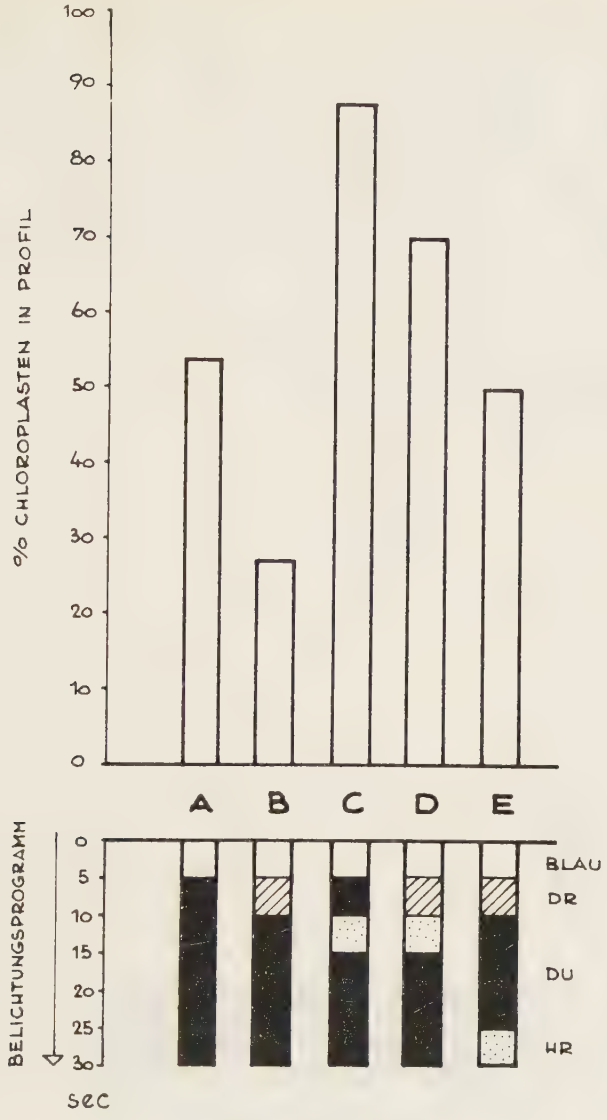


Abb. 14: Der HR-DR-Antagonismus bei der Starklichtreaktion. HR und DR in verschiedenen Kombinationen alternierend mit Blau eingestrahlt, Belichtungsprogramm nach unten aufgetragen. Periodenlänge 30 sec. (untere Ordinate) 20mal wiederholt. Obere Ordinate: Reaktionswert. Blau: (BG 7) 152 000; DR (AL 729) 18 000; HR (Il 679) 6900 erg/cm^2 • sec.

4. Der zeitliche Verlauf der Dunkelrot-Empfindlichkeit

Bei einer Periodendauer von 30 sec. variieren wir die zeitliche Folge von Blau, DR und Dunkel nach dem Programm, das in Abb. 15 unter den Reaktionswerten aufgezeichnet ist. Die Versuche ergeben, daß DR die Starklichtbewegung um so stärker hemmt, je geringer der zeitliche Abstand ist, mit dem die DR-Phase der Induktionsphase (Blau) folgt. Die Abbildung gibt damit zugleich die zunehmende Stabilisierung der Blaulicht-Wirkung wieder; diese Induktion ist nämlich in den ersten 10 Sekunden nach Beginn der Blau-Strahlung in jeder Periode weitgehend durch DR reversibel. Schiebt sich zwischen Blau und DR eine Dunkelphase von 20 sec. ein, so ist die Reversibilität auf ein geringes Maß abgesunken — der Induktionsvorgang ist in seine Folgeprozesse fortgeschritten, auf die DR keinen merklichen Einfluß mehr auszuüben imstande ist, hat sich also stabilisiert.

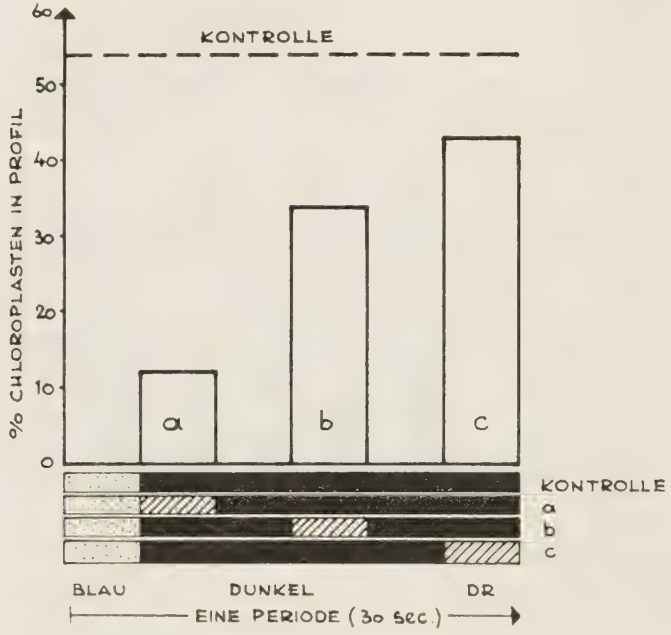


Abb. 15: Die DR-Wirkung innerhalb einer Periode bei intermittierender Belichtung. 24 Perioden zu 30 sec. mit den Phasen: Blau (BG 7) und DR (AL 729 nm) je 5 sec Dunkel 20 bzw. 25 sec. Versuchsprogramm unter der Abszisse. Ordinate: Reaktionswert. Intensitäten Blau (BG 7) 152 000; DR (AL 729 nm) 18 000 erg/cm² • sec.

V. Die Wirkung polarisierten Blaulichts

Erfolgt eine Lichtreaktion in strenger Abhängigkeit von der Schwingungsrichtung linear-polarisierten Lichtes, so lassen sich Rückschlüsse auf besonders gerichtete Strukturen in submikroskopischer Größenordnung ziehen [2]). Derartige gerichtete Strukturen konnten Bock und Haupt (1962) für die Schwachlicht-Bewegung bei *Mougeotia* sehr wahrscheinlich machen. Ich möchte aber untersuchen, wie sich der Chloroplast in linear-polarisiertem Blaulicht hoher Intensitäten verhält. Die Versuchsbelichtung erfolgt kontinuierlich.

1. Dosis-Effekt-Beziehung

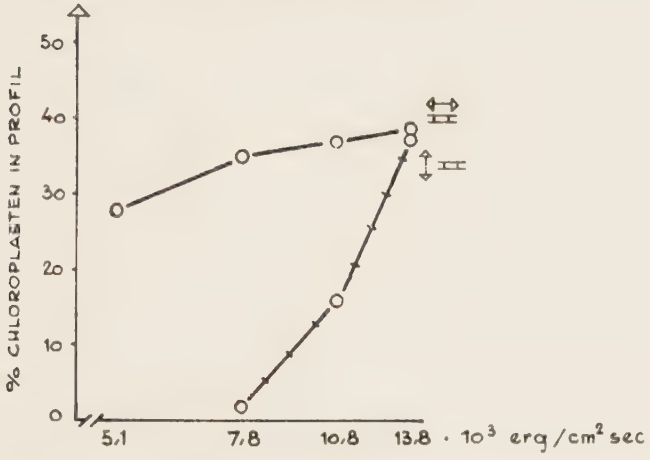


Abb. 16: Die Abhängigkeit der Reaktion von Intensität und Schwingungsrichtung polarisierter Induktionsstrahlung. Abszisse: Intensität des Blaulichts (BG 7) in 10^3 erg/cm² • sec. Schwingungsrichtung senkrecht (quergestrichene Kurve) bzw. parallel (durchgezogene Kurve) zur Längsachse der Zelle. Belichtungszeit: 10 min.

Die Kurven in Abb. 16 zeigen, daß quer [3])-schwingendes Licht weniger wirksam ist als längs [3])-schwingendes; hierüber wurde bereits kurz berichtet (Haupt und Schönbohm 1962). Gehen wir dem Verlauf der beiden Kurven bei weiter abnehmenden Intensitäten in Abb. 17 nach. Bemerkenswert ist, daß die Reizschwelle (bei einer Belichtungszeit von 30 Min.) für „längs" gegenüber

[2]) Doch gibt es auch Einschränkungen (Vgl. hierzu die Diskussionen bei Jaffe 1958 und bei Jaffe und Etzold 1962).

[3]) „quer": Schwingungsebene (E-Vektor) senkrecht zur Längsachse des Fadens orientiert. „längs": Schwingungsebene (E-Vektor) parallel zur Längsachse des Fadens orientiert.

„quer" bedeutend niedriger liegt (4:1). Der Anstieg einer jeden Kurve ist sehr steil, was besagt, daß die Sättigung bei längeren Belichtungszeiten sehr rasch erreicht ist, sofern nur einmal die Reizschwelle überschritten ist. Eigenartig ist, daß erst bei höheren Intensitäten sich die Reaktionswerte beider Kurven nähern (sowohl in Abb. 16 als auch in Abb. 17). Bei weiterer Er-

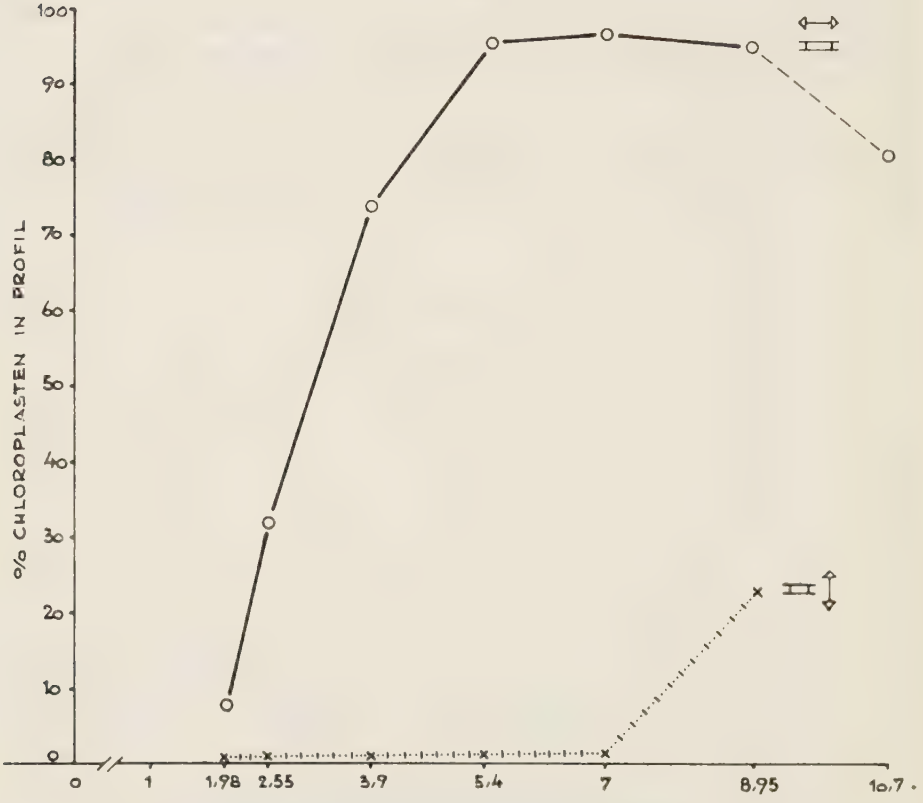


Abb. 17: Wie Abb. 16, aber monochromatisches Blaulicht (AL 471) mit einer Belichtungszeit von 30 min.

höhung der Strahlungsintensität ändert sich der Verlauf der Kurven für „quer" und „längs" grundlegend! Wir sehen in Abb. 18a, wie mit zunehmender Intensität die Reaktionswerte für „quer" weiter ansteigen; für „längs" fällt die Kurve dagegen nach einem Maximum stark ab, ähnlich wie die Dosis-Effekt-Kurve für unpolarisiertes Licht in Abb. 7. Versuche, bei denen anstelle des BG 7 ein Interferenzbandfilter Verwendung fand, fielen entspre-

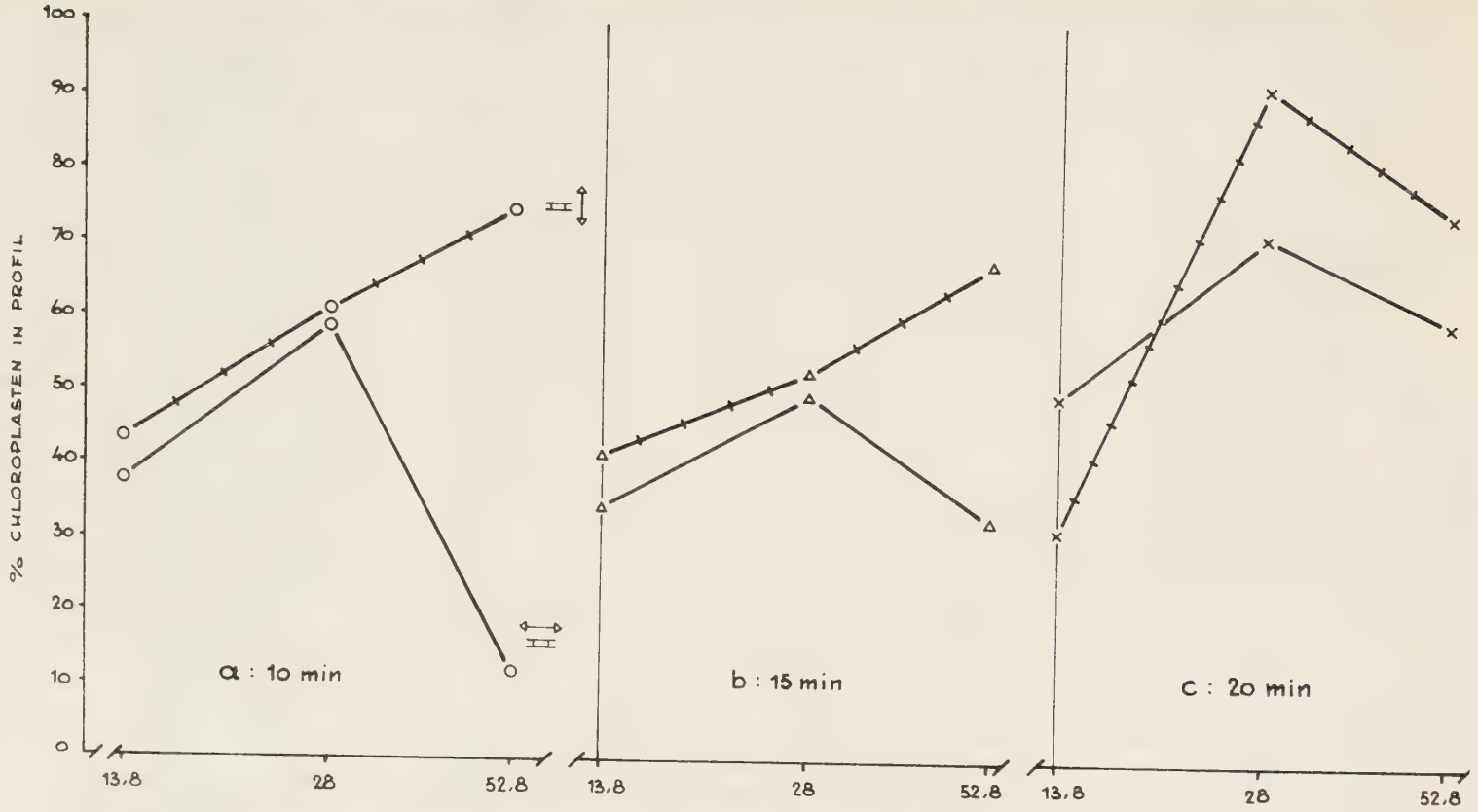


Abb. 18: Dosis-Effekt-Kurven für quer- und längsschwingende Blaustrahlung bei Belichtungszeiten von 10, 15 und 20 min. Abszisse: Eingestrahlte Intensität (BG 7) in 10^3 erg/cm² • sec. Ordinate: Reaktionswert. Bezeichnung der Kurven wie in Abb. 16.

chend aus. Ferner wirkt sich eine Erhöhung der Belichtungszeit bei gleichen Intensitäten auf den Kurvenverlauf für „quer" und „längs" in ganz verschiedener Weise aus (Abb. 18a—c). Besonders zu erwähnen ist die Tatsache, daß durch lange Belichtungszeiten (20 min.) auch die Kurve für „quer" nach einem Maximum zur höheren Intensität hin abfällt (Abb. 18c). Dadurch wird der Unterschied in der Wirksamkeit von „quer" und „längs" für hohe Intensitäten erheblich verringert; das um so mehr, als die Reaktionswerte für „längs" bei hohen Intensitäten und langen Belichtungszeiten relativ stärker angehoben werden als für „quer".

2. *Die Rückdrehung der Chloroplasten nach Belichtungsende*

Es konnte gezeigt werden, daß durch Blau-Strahlung hoher Intensität nicht nur Profil-, sondern auch gleichzeitig Flächenstellung induziert wird; weiter ist bekannt, daß querschwingendes Licht gegenüber längsschwingendem für die Schwachlicht-Bewegung von überragender Bedeutung ist. Daher stellen wir uns nun die Frage, ob die Rückdrehung der Chloroplasten nach Belichtungsende für „quer" und „längs" gleich stark ist. Weiter interessiert uns, ob diese Rückdrehung von der Höhe der eingestrahlten Intensität abhängig ist. In Abb. 19 ist das Ergebnis dieser Versuche wiedergegeben. Nach der ersten Auswertung fand 30 Minuten später eine zweite statt; das Präparat stand während dieser 30 Minuten im Dunkel. Der zweiten Auswertung entsprechen die beiden unteren Kurven, der Sofortauszählung die beiden oberen. Es zeigt sich, daß die Werte der quer-orientierten Chloroplasten stärker absinken als die der längs zur Polarisationsrichtung liegenden. Bei sehr hohen Intensitäten ist die Nachwirkung bei „quer" weit geringer, als wir es bei mittleren Intensitäten gesehen hatten. Die Rückdrehung ist bei niederen Intensitäten, verglichen mit höheren Intensitäten, sowohl bei „quer" als auch bei „längs" stärker.

Quer- und längsschwingendes Licht unterscheidet sich weiter in der Abhängigkeit der Rückdrehung von der Belichtungszeit (Abb. 20). Anschließend an eine Belichtung von 20 Minuten fallen die Reaktionswerte für „quer" und „längs" während einer einstündigen Dunkelphase ungefähr gleich stark ab. Nach einer Belichtungszeit von 60 Minuten treten dagegen erhebliche Unterschiede auf: In den längsorientierten Fäden drehen sich nur sehr wenige Chloroplasten während dieser Dunkelphase zurück, so daß nach einer Stunde der Reaktionswert immer noch bei 80 % liegt; im Gegensatz dazu fällt der Reaktionswert für „quer" auch hier im Dunkel erheblich ab.

3. *Spektrale Wirksamkeitsverteilung*

Die Wirkung quer-polarisierter Induktionsstrahlung unterscheidet sich unter den verschiedensten Bedingungen von derjenigen längs-polarisierter Strahlung. Ich halte es daher für sinnvoll, neben der Intensitäts- und Zeitabhängigkeit nun auch für verschiedene Spektralbereiche die Wirksamkeit quer- und längspolarisierter Strahlung zu untersuchen. Orientierende Versuche ermöglichten durch geeignete Intensitätswahl für einige Spektralbereiche (AL-Filter) in

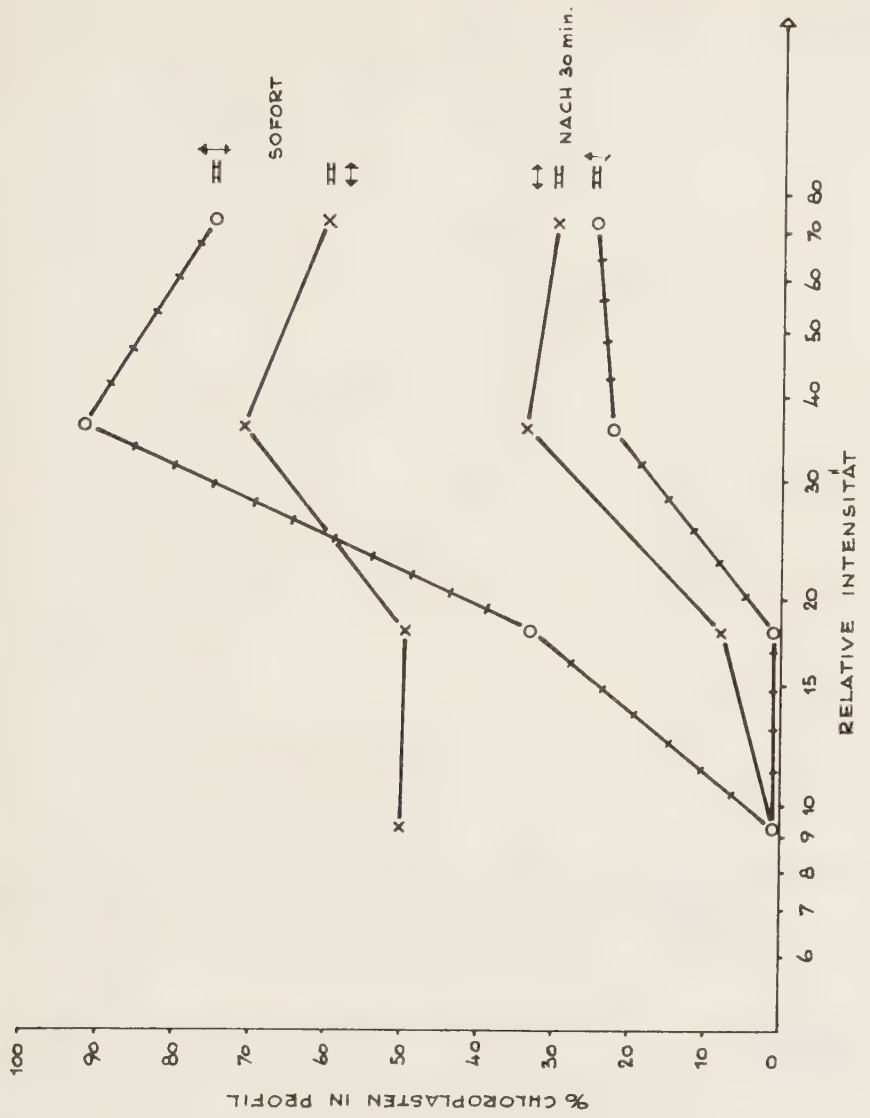


Abb. 19: Die Abhängigkeit der Nachwirkung (Rückdrehung) von Intensität und Schwingungsebene der Induktionsstrahlung (BG 7). Erste Auswertung (obere Kurven) direkt anschließend an eine Belichtungszeit von 20 min.; zweite Auswertung (untere Kurven) 30 min. nach Belichtungsende. Ordinate: Reaktionswert; Bezeichnung der Kurven wie in Abb. 16. Einheit der relativen Intensität 528 erg/cm² • sec.

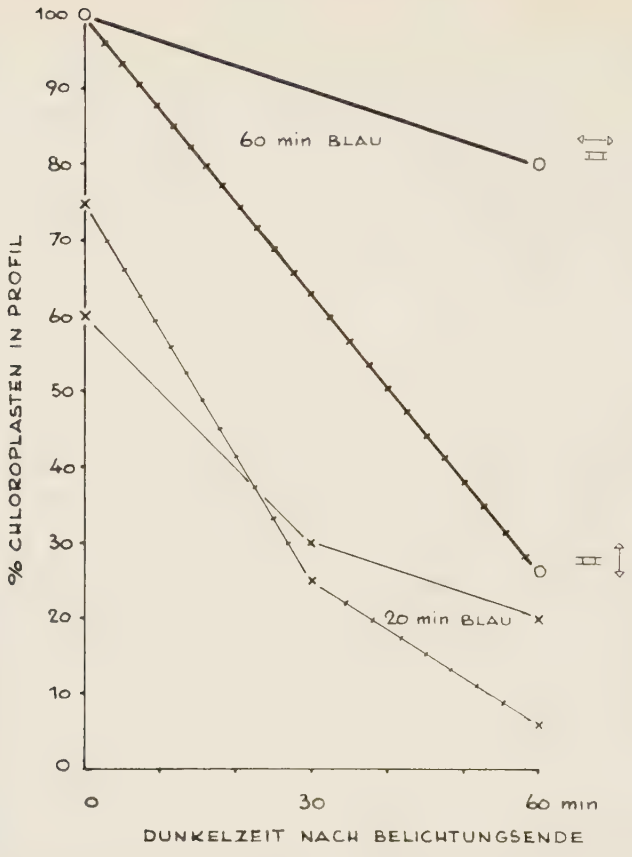


Abb. 20: Zeitlicher Verlauf der Rückdrehung nach der Starklichtbewegung in Abhängigkeit von der Belichtungszeit und der Richtung der Schwingungsebene. Abszisse: Zeit nach Beendigung der Induktion (BG 7 : 52 800 erg/cm² • sec.). Ordinate: Reaktionswert. Belichtungszeit an den Kurven angegeben. Bezeichnung der Kurven wie in Abb. 16.

längsschwingende Richtung einheitliche Reaktionen zu erhalten. Die Reaktionswerte lagen bei 40 ± 1 % Profil. Der Reziprokwert der eingestrahlten Intensität des wirksamsten Spektralbereichs (448 nm) wurde gleich 100 Prozent gesetzt; entsprechend lag die Wirksamkeit der übrigen Spektralbereiche niedriger. Das so entstandene Aktionsspektrum ist in Abb. 21 eingetragen (ausgezogene Kurve). Die Werte zu der quergestrichenen Kurve entstanden auf ähnliche Weise. Die Kurve stellt die spektrale Wirksamkeitsverteilung des querschwingenden Lichtes dar und ist aus Dosis-Effekt-Kurven und dem Parameter von 40 % entstanden. Aus dem Verlauf beider Kurven ist zu

ersehen, daß nach einem Bereich relativ und absolut gleicher Wirksamkeit [4]) (Maximum beider Kurven 448 nm/ 7000 erg/cm² · sec.) unterhalb 432 nm die spektrale Wirksamkeit von quer- und längspolarisiertem Licht verschieden ist [5]). Die punktierte Kurve gibt die Wirksamkeit für unpolarisiertes Licht wieder.

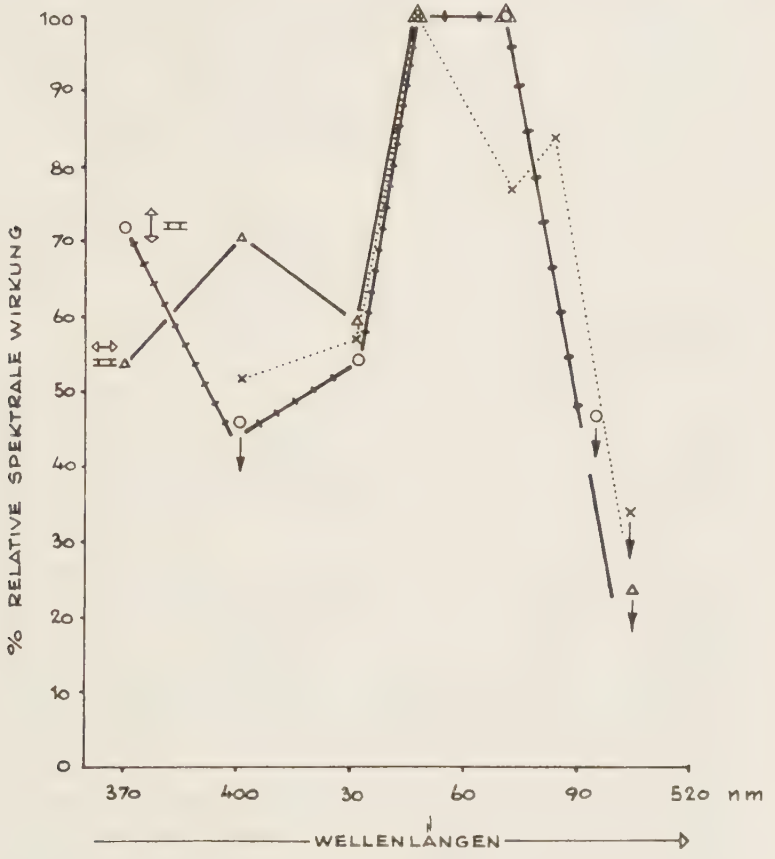


Abb. 21: Wirkungsspektrum für polarisiertes und unpolarisiertes Licht. Berechnung der relativen Wirksamkeit (Ordinate) siehe Text. Bezeichnung der Kurven wie in Abb. 16; für unpolarisiertes Licht: punktierte Kurve.

[4]) Auf den ersten Blick erscheint es befremdend, daß „quer" und „längs" bei 448 nm auch absolut gleiche Wirksamkeit haben; doch zeigt ein Vergleich mit Abb. 18a, daß wir hier zufällig in dem Bereich gearbeitet haben, in dem die beiden Dosis-Effekt-Kurven sich überschneiden.

[5]) Diese Verschiedenheit ist bei 400 nm noch größer als die Kurven erkennen lassen, da der „quer"-Wert bei 400 nm einen Maximalwert darstellt mit der Aussage, daß die Wirkung höchstens diese Größe hat.

Diese Versuche sind allerdings nicht direkt mit denen polarisierten Lichtes vergleichbar, da sie zeitlich zu sehr auseinander liegen, als daß das Material in beiden Fällen gleich „gestimmt" gewesen wäre. Auch die absoluten Intensitäten der Versuche mit unpolarisiertem Licht sind nicht mit den Intensitäten aus den Experimenten mit polarisierter Strahlung vergleichbar. Nach dem derzeitigen Stand der Untersuchungen kann noch nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob der Unterschied des Kurvenverlaufs zwischen polarisiertem und unpolarisiertem Licht bei 470 nm auf einer gegenseitigen Beeinflussung der beiden Schwingungsrichtungen polarisierten Lichtes beruht oder auf einem Unterschied in der Versuchsanordnung — in sämtlichen Versuchen mit polarisiertem Licht arbeitete ich mit denselben Filter-Individuen, hier mit AL 471 nm, wogegen mir in den Versuchen mit unpolarisiertem Licht nur das Filter AL 472 nm zur Verfügung stand. Hier wären weitere Untersuchungen lohnend.

VI. Die Wirkung von Dunkelrot vor der Induktion durch Blaulicht

Anhangsweise sei noch auf Versuchsergebnisse hingewiesen, die für die Methodik bei künftigen Untersuchungen von Bedeutung sein könnten.

Dunkelrot und Dunkel nach dem Richten:

Die Vorversuche hatten uns gezeigt, daß die Reaktionshöhe von der Dunkelheit zwischen Richten und Induktion abhängig ist (S. 239). Sollte während dieser Dunkelzeit die Schwachlichtwirkung abklingen und daher mit zunehmender Dunkelzeit die Starklichtempfindlichkeit ansteigen, so wäre daran zu denken, diese Schwachlichtwirkung durch eine Dunkelrot-Strahlung (DR) auszuschalten, wodurch eine lange Dunkel-Phase durch eine kurze DR-Bestrahlung ersetzbar sein würde.

Ich führte dazu entsprechende Versuche aus, deren Ergebnis in Abb. 22 dargestellt ist. Ein Vergleich der „DR-Kurven" mit den zugehörigen „Dunkel-Kurven" zeigt, daß eine DR-Bestrahlung von 12 Minuten eine Dunkelzeit von 45 Minuten voll ersetzen kann. Nach diesem Ergebnis scheint DR die Schwachlichtinduktion zu löschen, wodurch die Dunkelzeit verkürzt bzw. entbehrt werden kann. Die punktierten und gestrichelten Kurven zeigen, daß neben der Induktionslöschung durch DR zusätzlich eine Sensibilisierung gegenüber der sich anschließenden Starklichtinduktion eintritt. Die Werte der entsprechenden „Dunkel-Kurven" (ohne DR) liegen selbst für die als optimal angesehene Dunkelzeit von 45 Minuten weit unter den Profilwerten der DR-Präparate für 20 Minuten. Diese Möglichkeit einer Sensibilisierung könnte evtl. in zukünftigen Untersuchungen genützt werden.

Dunkelrot-Einfluß vor dem Richten:

Quantitativ noch nicht exakt belegte Versuche zeigten, daß DR auch schon vor dem Richten einen Einfluß auf die spätere Starklichtreaktion hat; die Reaktionswerte liegen deutlich unter der Norm, wenn die Algen vor dem Richten 2 Stunden oder länger in Weißlicht ohne erheblichen DR-Anteil (HNT-Röhren) gestanden sind. Kurze DR-Belichtungen, selbst mit hohen Intensitäten, konnten weder vor noch nach dem Richten gegeben, die Reaktionsfähigkeit des Materials wieder normalisieren. Bringen wir das Material vor dem Richten für 2—3 Stunden unter Anzuchtbedingungen (Weißlicht mit größerem DR-Anteil), so ist die volle Reaktionsfähigkeit für die Blaulicht-Induktion (Starklichtinduktion) wieder hergestellt. Bei der Schwachlicht-Induktion scheinen ähnliche Verhältnisse vorzuliegen. Diese Beobachtungen bedürfen noch weiterer Analyse.

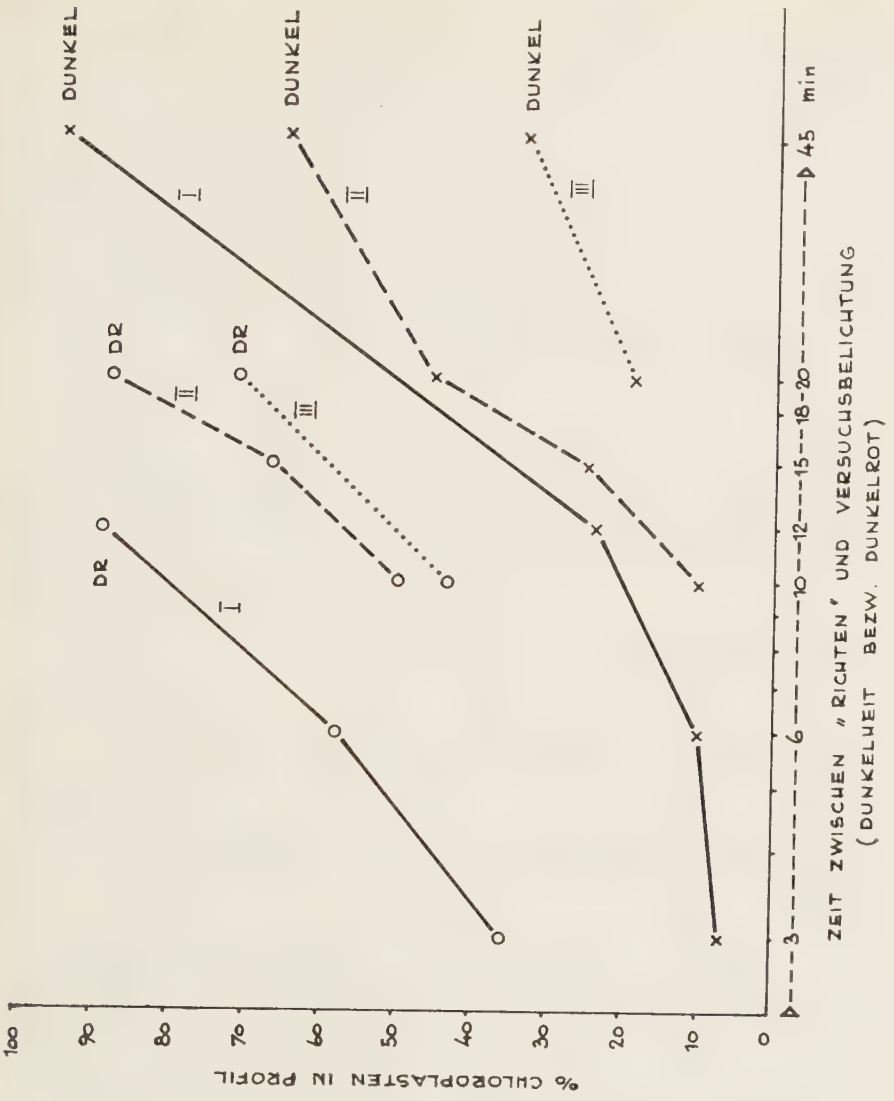


Abb. 22: Die sensibilisierende Wirkung einer DR-Bestrahlung nach Ende des Richtens bis zur Induktion. Abszisse: Dauer dieser Bestrahlung (bzw. Dunkelzeit bei den Kontrollen). Ordinate: Reaktionswert. Induktion 12 min. mit 42 000 (BG 7 o———o / x———x) bzw. 28 600 erg/cm² • sec. (AL 472 o- - - -o / x- - - -x und o·····o / x·····x). DR: RG 9 + KG 1, Niedervoltlampe.

D. Diskussion

Bei phototaktisch reagierenden Organismen, z. B. Flagellaten, ist die negative Reaktion im allgemeinen eine einfache Umkehr der positiven (Haupt 59b); die Umstimmung erfolgt meist durch einfache Erhöhung der Lichtintensität, dementsprechend stimmen dann die Aktionsspektren beider Reaktionstypen exakt überein (z. B. Halldal 1958). Auch für die „Phototaxis" der Chloroplasten scheint das in vielen Fällen zuzutreffen (Zurzycki 1962, im Gegensatz zu früheren Angaben). Grundsätzlich anders liegen dagegen die Verhältnisse bei der Phototaxis des *Mougeotia*-Chloroplasten. Daß hier beide Reaktionstypen auf verschiedenen Lichtwirkungen beruhen, haben bereits Senn (1908) und Mosebach (1959) erkannt; diese Befunde konnten hier voll bestätigt werden.

Während der Schwachlicht-Bewegung das HR-DR-Pigment, das Phytochrom, zugrunde liegt, muß es sich bei der Starklicht-Bewegung um ein Pigment handeln, das im blauen Bereich absorbiert. Einige Ergebnisse sprechen mindestens nicht unbedingt dagegen, daß ein Flavin für die Starklicht-Bewegung von Bedeutung sein könnte, wenngleich die Übereinstimmung mit der Absorption des Riboflavin nicht so gut ist wie in anderen Fällen von Chloroplasten-Phototaxis (Fischer-Arnold 1963, Zurzycki 1962). Erschwerend ist für uns die Diskrepanz in der Wirkung von quer- und längsschwingendem Licht bei den Wellenlängen unterhalb 430 nm.

Unterschiede zwischen der Bewegung zur Fläche und jener zur Kante zeigen sich aber nicht nur im photochemischen Primärprozeß, sondern auch im Bewegungsmodus: Die Schwachlicht-Bewegung läuft in 30—40 Minuten ab, wogegen die Starklicht-Bewegung in 10 Minuten, unter besonders günstigen physiologischen Bedingungen in 4—5 Minuten abgelaufen ist. Diese Ergebnisse stellen eine Übereinstimmung mit den Angaben von Moore und Stahl dar.

Lewis beschreibt die Starklicht-Bewegung bei *Mougeotia* als einen Typus, der dem der Schwachlicht-Bewegung insofern entspricht, als ein nur kurzdauernder (90 sec.) Induktionsprozeß deutlich von einer nachfolgenden Dunkelreaktion zu trennen ist, die über 30 Minuten hindurch von der Induktion her gesteuert werden kann. In eigenen ausführlichen Untersuchungen konnten die Angaben von Lewis nicht bestätigt werden: auf eine kurze einmalige Induktion folgte keine Profilstellung, wenn die Belichtungszeit nicht mindestens 4 Minuten betrug. Nach längeren Belichtungszeiten stieg der Reaktionswert jedoch noch 5 Minuten weiter an, wobei dieser Anstieg maximal nur 10—20 % ausmachte. Der Prozentsatz der Chloroplasten in Profil fing spätestens 15—20 Minuten nach Belichtungsende an rapide abzufallen, wobei es gleichgültig ist, ob die Induktion durch Blau- oder Weißlicht erfolgte (Abb. 2). Experimentell

wiesen wir nach, daß der zeitliche Verlauf dieses Abfalls in Übereinstimmung steht mit dem der Schwachlicht-Reaktion. Eine zusätzliche Dunkelrot-Behandlung erbrachte den Beweis, daß das Abfallen der Reaktionswerte im Anschluß an die kurze „positive" Nachwirkung wirklich die echte Schwachlicht-Reaktion darstellt; denn ganz entsprechend wie in den Schwachlicht-Versuchen wurde in den Starklicht-Versuchen durch DR die Drehung der Chloroplasten von Profil- in Flächenstellung verhindert. Die Vermutung, daß durch Blaulicht hoher Intensität gleichzeitig sowohl Starklicht- als auch Schwachlicht-Reaktion ausgelöst werden kann, erwies sich damit als zutreffend. Diese gleichzeitige Induktion für zwei einander entgegenlaufende Reaktionen erschwert natürlich die Deutung der Starklicht-Versuche überaus, kann aber eventuell eine Erklärung für die Diskrepanz in den Wirkungsspektren für polarisiertes Licht liefern (s. u.).

Die Induktion muß bei der Starklicht-Bewegung während der gesamten Reaktionsdauer erfolgen, wogegen bei der Schwachlicht-Bewegung schon eine einzige kurze Belichtung (z. B. von einer Sekunde) genügt, um sämtliche Folgereaktionen zu ermöglichen, die im Dunkel ablaufen und nach 30—40 Minuten zur Flächenstellung des Chloroplasten führen.

Die Versuche zur Bedeutung der intermittierenden Belichtung ließen jedoch andererseits wieder erkennen, daß der Unterschied der beiden Reaktionstypen (Tendenz zur Fläche, Tendenz zur Kante) kein absoluter, sondern ein relativer ist. Kurze Induktionen in der Größenordnung wie bei den Schwachlicht-Versuchen führen, sofern sie häufig genug wiederholt werden, endlich auch bei der Starklicht-Bewegung zu deutlicher Reaktion. Wie die Versuche mit zusätzlicher intermittierender DR-Bestrahlung zeigen, ist bei der „negativen Phototaxis" die Induktion nach 30 Sekunden vorläufig stabilisiert und damit summierungsfähig. Sie geht also rascher, als wir es von der Schwachlicht-Bewegung her kennen, in Folgeprozesse über, die durch DR nicht mehr wesentlich beeinflußt werden können. Damit aber der Prozeßablauf, der endlich die Profilstellung bedingt, unter genügender Energiezufuhr und ohne „Stocken" ablaufen kann, dürfen zwischen den einzelnen Teilinduktionen keine allzu großen Dunkelphasen liegen, — oder aber die Belichtung muß kontinuierlich erfolgen. Aus diesem Unterschied der beiden Reaktionstypen und der für eine Reaktion erforderlichen optimalen Dauer der Induktion müssen wir erwarten, daß das Reizmengen-Gesetz bei der Starklicht-Bewegung im Gegensatz zur Schwachlicht-Bewegung keine uneingeschränkte Gültigkeit hat, was aus den Versuchen auch klar hervorgeht. Bei der Starklicht-Bewegung konnte für kontinuierlich verabfolgte Reizmengen in keiner Zeit-Intensität-Kombination

das RMG als gültig nachgewiesen werden, wogegen bei intermittierender Belichtung sich ein begrenztes Energiegebiet finden ließ, indem das RMG gültig ist. Der Übergang von „Gültigsein" zu „Nicht-mehr-Gültigsein" des RMG erfolgt hierbei innerhalb eng beieinanderliegender Reizmengen. Ein Vergleich mit den Verhältnissen bei der Schwachlicht-Bewegung bei *Mesotaenium* ist insofern interessant, als auch hier bei kontinuierlicher Belichtung das RMG keine Gültigkeit hat; bei intermittierender Belichtung aber ist bei *Mesotaenium* die Gültigkeit, im Gegensatz zur Starklicht-Bewegung bei *Mougeotia*, für weite Energiegebiete nachgewiesen (Haupt und Thiele 1961).

Eine Wiederholung der gesamten Versuche zur Prüfung der Gültigkeit des RMG bei der Starklichtbewegung mit polarisiertem Licht hätte uns hier vielleicht weiterführen können, mußte jedoch unterbleiben, da uns die Lichtquellen fehlen, mit denen wir polarisiertes Blaulicht der erforderlich hohen Intensitäten erzielen können.

Die Intermittierungsversuche ließen ein weiteres Phänomen zu Tage treten: Sehr hohe Intensitäten bedingen dann schwächere Reaktionen als mittlere, wenn die Lichtphase zu lang (extrem: kontinuierliche Belichtung!) ist, oder wenn auf eine Lichtphase eine relativ kurze Dunkelphase folgt. Wir müssen annehmen, daß die eingestrahlte Energie unter diesen Bedingungen für die Drehung des Chloroplasten nur teilweise — also unvollständig — genützt werden kann. Da wir aber unter günstigen Versuchsbedingungen durch intermittierend eingestrahltes Licht — im Vergleich zu kontinuierlichem Licht — trotz übereinstimmender Energie und Versuchszeit höhere Reaktionen erhalten als mit kontinuierlich eingestrahltem Licht (Abb. 12), müssen wir an eine Hemmung des Reaktionsablaufes durch hohe Intensitäten denken. In diese Richtung weist auch der Verlauf der Dosis-Effekt-Kurven, die unter bestimmten Bedingungen bereits bei mittleren Reaktionswerten in einen flacheren Verlauf übergehen (Abb. 6).

Ob hierbei der Gradient aufgehoben wird, oder ob es sich um eine Inaktivierung des Photoreceptors, um Viskositätserhöhung oder um reversible Schädigung des Reaktionssystems handelt, kann nach dem derzeitigen Stand der Untersuchungen noch nicht eindeutig entschieden werden (vgl. Mohr 1960, ferner die Untersuchungen und theoretischen Deutungen von Briggs zum Phototropismus). Wichtige Hinweise in dieser oder jener Richtung sollten die Versuche mit polarisiertem Licht liefern.

Die Abhängigkeit der Reaktion von der Orientierung der Schwingungsebene polarisierten Lichtes ist für die beiden Bewegungstypen völlig verschieden. Bei der Schwachlichtbewegung können wir mit ziemlicher Sicherheit annehmen, daß nur quer zur Fadenlängsachse schwingendes Licht die Bewegung zur Fläche auslöst (Haupt 1960). Bei der Starklicht-Bewegung ist das gegenseitige Wirkungsverhältnis von quer- zu längsschwingender Blaustrahlung intensitäts-

abhängig: Im niederen Intensitätsbereich ist „quer" weniger wirksam als „längs", im hohen Intensitätsbereich liegen die Verhältnisse genau umgekehrt, und in mittleren Bereichen unterscheiden sich „quer" und „längs" in ihrer Wirksamkeit in Bezug auf den Reaktionswert nicht. Ein Vergleich der Wirksamkeit polarisierter mit unpolarisierter Strahlung zeigt, daß die knapp verdreifachte unpolarisierte Strahlung jeweils gleiche Reaktionen bewirkt wie die einfache längspolarisierte Strahlung (vgl. Tab. 2), — daß also das Licht etwa so wirkt, als wäre nur der längsschwingende Anteil vorhanden.

Intensität für 1. und 2.	1. längs-polarisiert	2. quer-polarisiert	Intensität für 3.	3. unpolarisiert
13,8	12 %	43 %	36,6	36 %
28	59 %	61 %	75	55 %
52,8	38 %	75 %	140	14 %

Tab. 2: Vergleich der Wirkung von quer- und längspolarisierter mit unpolarisierter Strahlung (BG 7). Intensität in 10^3 erg/cm² • sec., Belichtung kontinuierlich 10 Minuten.

Beachten wir den Unterschied der Wirksamkeit von quer- und längspolarisiertem Licht bei hohen Intensitäten, jetzt aber bei verschiedenen Belichtungszeiten (vgl. Abb. 18), so fällt auf, daß die „Tendenz zur Fläche" (durch querschwingendes Blau induziert) bei kurzen Belichtungszeiten noch völlig unterdrückt wird, wogegen es bei zunehmend längeren Belichtungszeiten den Anschein hat, als würde sich diese Tendenz verstärkt bemerkbar machen, was dadurch zu Tage tritt, daß die Reaktionswerte für „längs" weiter ansteigen, für „quer" jedoch sich wenig verändern, bzw. bei längeren Belichtungszeiten „quer" sogar niedriger ausfallen als bei kürzeren. Sofern das Bewegungssystem für die Schwachlicht-Bewegung das gleiche ist wie für die Starklicht-Bewegung, können wir ergänzend fortfahren, daß dieser Abfall der Reaktionswerte für „quer" bei hohen Intensitäten nicht auf einer Schädigung des Bewegungssystems beruht, denn die Schwachlicht-Bewegung (Rückdrehung) ist immer noch möglich. In der Dunkelphase, die sich an die Induktionsstrahlung durch polarisiertes Licht anschließt, erfolgt die Rückdrehung der Chloroplasten, die von querschwingendem Licht getroffen wurden, gegenüber den längsorientierten erheblich stärker, was erneut die Tatsache unterstreicht, daß durch hohe Blau-Intensität sowohl Flächen- als auch Profilstellung gleichzeitig induziert wird.

Die „Tendenz zur Fläche" läßt sich innerhalb der Versuchsbelichtung durch DR-Phasen, die mit Blau-Phasen alternieren, nicht unterdrücken. Wenn DR und HR n a c h der Versuchsbelichtung (Blau) eingestrahlt werden, wirken sie wie in den Schwachlicht-Versuchen; wird die langwellige Strahlung jedoch

während der Versuchsbelichtung (Blau) gegeben, haben HR und DR völlig andere Wirkung. Die DR- und HR-Strahlung erreicht bereits bei sehr niederen Intensitäten die Sättigung ihrer Wirkung. Die Größenordnung dieser Intensitäten stimmt mit jener der in den Schwachlicht-Versuchen bei *Mesotaenium* (Haupt und Thiele) gefundenen weitgehend überein (vgl. Haupt und Thiele: Abb. 5; sowie Abb. 13a und b dieser Arbeit).

Wenn auch der endgültige Beweis noch nicht erbracht werden konnte, wollen wir die Vermutung aussprechen, daß der Wirkung langwelliger Strahlung — während der Induktion durch Blau — das Phytochromsystem zugrunde liegt. Die Wirkung langwelliger Strahlung ist während der Versuchsbelichtung (Blau) mit großer Warhscheinlichkeit unabhängig von der Strahlungsrichtung [6]), doch konnte der experimentelle Beweis dazu noch nicht erbracht werden.

Der eigenartige Verlauf der Dosis-Effekt-Kurven in seiner Abhängigkeit von der Belichtungsdauer und der Orientierung der Schwingungsebene polarisierten Lichts (Abb. 6, 7 und 16 ff.) läßt sich aus verschiedenen Gründen noch nicht deuten: Es ist uns bisher noch nicht gelungen, bei Einstrahlung hoher Blauintensitäten die beiden Reaktionstypen (Tendenz zur Flächen-, bzw. Tendenz zur Profilstellung) experimentell voneinander zu trennen. Der Bedeutung polarisierter Induktionsstrahlung konnte bisher aus technischen Gründen nur mit relativ breiten Spektralbereichen nachgegangen werden.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Suche nach einem Photoreceptor; auf die Diskrepanz im kurzwelligen Blau (unterhalb 432 nm) zwischen quer- und längspolarisierter Strahlung ging ich bereits ein. Auch hier setzten die erforderlichen hohen Intensitäten bei möglichst spektraler Reinheit einerseits, die technischen Gegebenheiten andererseits meinen Bemühungen eine vorläufige Grenze. Für einen weiteren Fortschritt wären noch leistungsfähigere Lichtquellen zu fordern, wenn es nicht gelingt, mit Hilfe der sensibilisierenden Wirkung langwelliger Strahlung den Energiebedarf für unsere Reaktion erheblich herabzusetzen.

E. Zusammenfassung

Bei der „negativen Phototaxis" von *Mougeotia* dreht sich der plattenförmige Chloroplast aus der Flächenstellung (Schwachlichtlage) in Kantenstellung (Starklichtlage). Die Versuche brachten folgende Ergebnisse:

---

[6]) Weder Hellrot noch Dunkelrot hoher Intensitäten erzielen ohne Blau, auf Fläche eingestrahlt, Profilstellung. Ähnliche Ergebnisse finden wir bei Zurzycki, denen zufolge HR nur die Geschwindigkeit des Bewegungsprozesses, nicht jedoch die räumliche Orientierung der Chloroplasten direkt beeinflußt.

1. Vor der Versuchsbelichtung wirkt eine Dunkelphase von 30—40 Minuten oder eine Dunkelrot-Vorbehandlung sensibilisierend (Abb. 3 und 22).
2. Die Strahlungsenergie muß während der gesamten Reaktionszeit, die unter normalen Bedingungen 10 Minuten beträgt, entweder kontinuierlich oder intermittierend zugeführt werden.
3. Nach der Belichtung dreht sich der Chloroplast in die Flächenstellung zurück; dieses Zurückdrehen kann durch Dunkelrot nach Belichtungsende verhindert werden. Es handelt sich dabei um eine typische Schwachlicht-Bewegung (positive Phototaxis); die Induktion dafür erfolgt gleichzeitig mit der Starklichtinduktion, wobei querschwingend polarisiertes Licht eine besonders starke Rückdrehung induziert (Abb. 2 und 19).
4. Der Starklichtreaktion liegt ein im Blau absorbierendes Pigment mit Absorptionsmaximum zwischen 450 und 480 nm zugrunde (Abb. 5 und 21).
5. Das Reizmengen-Gesetz hat bei kontinuierlich eingestrahlter Energie keine Gültigkeit; erfolgt die Belichtung intermittierend, so konnte für Energien über 10^6 erg/cm^2 volle Gültigkeit nachgewiesen werden (Tab. 1; Abb. 11).
6. Bei intermittierender Belichtung sind die Dauer der Dunkelphasen sowie die Anzahl und Länge der Perioden bei konstanter Versuchszeit von großem Einfluß auf die Höhe der Reaktion (Abb. 8, 9 und 10). Bei günstigem Belichtungsprogramm lassen sich bei konstanter Gesamtversuchszeit und gleicher Intensität durch intermittierende Belichtung wesentlich höhere Reaktionen erzielen (also mit weniger Gesamtenergie!) als mit kontinuierlicher Belichtung (Abb. 12).
7. Dunkelrot unterdrückt, Hellrot fördert die Starklichtreaktion, wenn die langwellige Strahlung entweder kontinuierlich und gleichzeitig mit der Starklichtstrahlung erfolgt oder mit dieser alternierend eingestrahlt wird. HR hebt, unmittelbar nach DR eingestrahlt, dessen hemmende Wirkung auf. Die Wirkung von Dunkelrot ist am größten, wenn sie gleichzeitig mit Blau, bzw. unmittelbar nach den Blauphasen erfolgt (Abb. 13—15).
8. Die Intensitäts-Reizschwelle für längsschwingendes Licht liegt wesentlich niedriger als die für querschwingendes. Von dieser absoluten Verschiebung abgesehen ist der Verlauf der Dosis-Effekt-Kurven für beide Schwingungsrichtungen recht ähnlich: Die Kurven fallen — nachdem sie ein Maximum erreicht haben — mit weiter zunehmenden Intensitäten wieder ab; für querschwingende Strahlung konnte dieser Kurvenabfall allerdings nur bei langen Versuchszeiten gefunden werden. Das Wirkungsverhältnis von quer- zu längsschwingendem Licht hängt also entscheidend von der Intensität und der Belichtungszeit ab (Abb. 16 ff.).

Summary

If exposed to high light intensities, the chloroplast of *Mougeotia* turns from face to profile position. This so-called negative phototaxis has been analysed in the present investigation.

1. Contrary to the positive phototaxis which is mediated by the phytochrome system (the well-known red far-red pigment), the negative phototaxis is induced by light of short wavelengths only, the maximum effect being found between 450 and 480 nm (Abb. 5).

2. Contrary to the positive phototaxis which takes place in the dark period following a very short light flash, the negative phototaxis requires continous irradiation during the whole course of response (Tab. 1) or at least regular repetitions of short irradiation until the response is completed (Abb. 8). Only in the latter case (intermittent irradiation) the reciprocity law is valid, but even then only within a certain range of intensity and time (Abb. 11).

3. Following the phototactic movement, the profile orientation is not stable in darkness, but the chloroplast soon turns back to face orientation. If however the phototactic response is followed by a short far-red irradiation, the turning back is prevented for several hours (Abb. 2). From this we conclude that the turning back into face orientation is due to an after-effect brought about by the irradiation and therefore must be identical with the normal positive phototaxis, following a short irradiation. As is well known, such an induction can be cancelled by far red. In accordance with this view, the after effect in question is more effective if the negative phototaxis had been induced by polarized light vibrating perpendicularly to the cell axis, than by parallel vibrating one (Abb. 19/20).

4. If negative phototaxis is induced by intermittent irradiation, the effect depends mainly on the duration of the light and dark periods and the number of the light - dark cycles in a given time. In certain combinations of these factors, intermittent irradiation may be even more effective than continous one, though in the first case less total energy is irradiated during the same time (Abb. 12).

5. If in intermittent irradiations blue light is given alternating with red or far red instead of dark, these long wavelengths greatly influence the inducing effect of blue. In contrast to expectation red light increases (13 b) and far red reduces the response (13 a), both light qualities being antagonistic as in true phytochrome reactions (Abb. 14). Dark intervals of several seconds between the blue and long wavelength flashes greatly reduce the effect of this long wavelength light, which is nearly ineffective with intervals of 20 seconds

or more (Abb. 15). This points to secondary processes following the light absorption in blue and leading to a transient stabilization of the blue light effect in a very short time.

6. Using polarized light, contrary to the positive phototaxis the negative one is more sensitive to light vibrating parallel to the cell axis than to cross vibrating light (Abb. 16/17). With very high intensities however, the response decreases at least if the induction is carried out by unpolarized or parallel polarized light (Abb. 18a).

7. Using polarized light, the action spectra for parallel and cross vibrating light are exactly identical to each other and to that for unpolarized light above 430 nm, but greatly differ below that wave length, especially in the raige of 400 nm (Abb. 21). This result is unexplained until now, but it may be due to some interference with the positive phototaxis.

8. Far-red irradiation has some modifying effects on the negative phototaxis. As mentioned above, it stabilizes the response, if applied *after* the whole induction, and it reduces the response if given *during* the induction. But moreover, far-red sensitizes the cells, if applied *before* the inducing blue irradiation (Abb. 22). This latter effect is explained at least partly by far-red cancelling the after-effect which arised from the pretreatment necessary to orient the chloroplast into starting position for the experiment.

Meinem verehrten Doktorvater, Herrn Prof. Dr. W. Haupt, danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für sein stetes Interesse an ihrem Fortgang. Herrn Prof. Bünning für die Überlassung eines Arbeitsplatzes sowie für die Bereitstellung der erforderlichen Mittel.

Die Arbeit fand Unterstützung durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die Herrn Prof. Haupt zur Verfügung standen.

F. Literatur

Bock, G. und Haupt, W.: Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. III. Die Frage der Lokalisierung des Hellrot-Dunkelrot-Pigmentsystems in der Zelle. Planta (Berl.) **57**, 518—530 (1961).

Briggs, W. R.: Light-Dosage and phototropic responses. Plant Physiology **35**, 951—961 (1960).

Fischer-Arnold: Die lichtinduzierte Chloroplastenbewegung bei *Vaucheria*. Protoplasma 1963 (im Druck).

Halldal, P.: Action spectra of phototaxis and related problems in Volvocales, *Ulva*-Gametes and Dinophyceae. Physiol. Plantarum (Copenh.) **11**, 118—153 (1958).

Haupt, W.: Hellrot-Dunkelrot-Antagonismus bei der Auslösung der Chloroplastenbewegung. Naturwiss. **45**, 273/74 (1958).

Haupt, W.: Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. I. Über den quantitativen und qualitativen Lichtbedarf der Schwachlichtbewegung. Planta (Berl.) **53**, 484—502 (1959).

Haupt, W.: Die Phototaxis der Algen. Handbuch der Pflanz. Physiol. XVII/1, 318—370 (1959).

Haupt, W.: Die Chloroplastenbewegung bei *Mougeotia*. II. Die Induktion der Schwachlichtbewegung durch linearpolarisiertes Licht. Planta (Berl.) **55**, 465—479 (1960).

Haupt, W. und Thiele, R.: Chloroplastenbewegung bei *Mesotaenium*. Planta **56**, 388—401 (1961).

Haupt, W. und Schönbohm, E.: Das Wirkungsspektrum der „negativen Phototaxis" des *Mougeotia*-Chloroplasten. Naturwiss. **49**, 42 (1962).

Haupt, W. und Schönfeld, I.: Über das Wirkungsspektrum der „negativen Phototaxis" der *Vaucheria*-Chloroplasten. Ber. dt. Bot. Ges. **75**, 14—23 (1962).

Haupt, W. und Bock, G.: Die Chloroplastenbewegung bei *Mougeotia*. IV. Die Orientierung der Phytochrom-Moleküle im Cytoplasma. Planta (Berl.) **59**, 38—48 (1962).

Jaffe, L. F.: Tropistic responses of zygotes of the Fucaceae to polarized light. Exp. Cell Research **15**, 282—299 (1958).

Jaffe, L. F. and Etzold, H.: Orientation and locus of tropic photoreceptor molecules in spores of Botrytis and Osmunda. Jour. Cell Biol. **13**, 13—31 (1962).

Lewis, F. J.: The action of light on *Mesocarpus*. Ann. Bot. **12**, 418—421 (1898).

Mohr, H.: Photomorphogenetische Reaktionssysteme in Pflanzen. 2 Teil: Der Einfluß kurzwelligen Lichtes auf Wachstum und Entwicklung. Ergebn. Biol. **23**, 47—93 (1960).

Mugele, F.: Der Einfluß der Temperatur auf die lichtinduzierte Chloroplastenbewegung. Zeitschr. Bot. **50**, 368—388 (1962).

Moore, Sp. le M.: The influence of light upon protoplasmic movement. I. Linn Journ. Soc. Bot. **24**, (1888).

Mosebach, G.: Zur Phototaxis von *Mougeotia* (Mesocarpus). Planta (Berl.) **52**, 3—46 (1958).

Senn, G.: Die Gestalts- und Lageveränderungen der Pflanzen-Chromatophoren. Leipzig: Wilhelm Engelmann (1908).

Stahl, E.: Über den Einfluß von Richtung und Stärke der Beleuchtung auf einige Bewegungserscheinungen im Pflanzenreich. Bot. Ztg. **38**, 257—413 (1880).

Zurzycki, J.: The Action Spectrum for the Light Dependent Movements of Chloroplasts in *Lemna trisulca* L. Acta Soc. Bot. Polon. **31**, 489—538 (1962).

Dr. Ekkehard Schönbohm, Botanisches Institut, 44 Münster, Schloßgarten 3

Lebenslauf

Ich, Ekkehard Schönbohm, bin am 12. 10. 1934 als Sohn des Berufsschuldirektors Herbert Schönbohm und seiner Ehefrau Elsbeth, geb. Keller, in Aalen geboren. Nach 4 Jahren Grundschule in Aalen besuchte ich 9 Jahre das dortige Schubart-Gymnasium und legte im März 1955 die Reifeprüfung ab. Von Mai 1955 bis zum Wintersemester 1961/62 war ich Student der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät in Tübingen. Von November 1959 bis August 1962 arbeitete ich an vorliegender Dissertation unter der Anleitung zu selbständig wissenschaftlichem Arbeiten von Prof. Dr. W. Haupt, Tübingen.

Meine Lehrer waren die Herren Professoren Bünning, Haupt, Mägdefrau, Reinert, Zimmermann in Botanik; Grell, Krause, Möhres, Risler in Zoologie; Hellmann, Müller, Rüdorff in Chemie.

Aalen, den 28. August 1962.

Sonderdruck aus „Zeitschrift für Botanik" Band 51 (1963)
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart